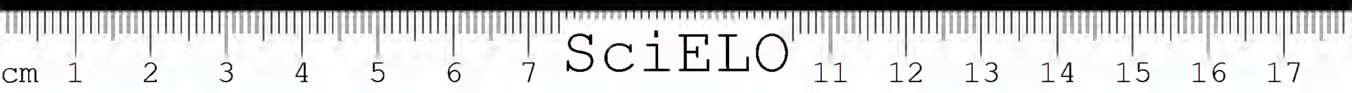
MEMÓRIAS
DO
INSTITUTO BUTANTAN

1953

TOMO XXV
FASC. 2



São Paulo, Brasil
Caixa Postal 65


cm 1 2 3 4 5 6 7 SciELO 11 12 13 14 15 16 17


cm 1 2 3 4 5 6 7 SciELO 11 12 13 14 15 16 17



MEMÓRIAS
DO
INSTITUTO BUTANTAN

1953

TOMO XXV
FASC. 2



São Paulo, Brasil
Caixa Postal 65

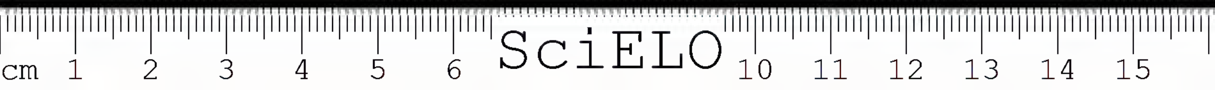
As "MEMÓRIAS DO INSTITUTO BUTANTAN" são destinadas à publicação de trabalhos realizados no Instituto ou com a sua contribuição. Os trabalhos são dados à publicidade logo após a entrega e reunidos anualmente num volume.

Serão fornecidas, a pedido, separatas dos trabalhos publicados nas "Memórias", solicitando-se nesse caso o obséquio do envio de outras separatas, em permuta, para a Biblioteca do Instituto.

Toda a correspondência editorial deve ser dirigida ao:

Redactor das "Memórias do
INSTITUTO BUTANTAN"
Caixa Postal 65
S. Paulo, S. P., BRASIL

PEDE-SE PERMUTA
EXCHANGE DESIRED.



ÍNDICE

PÁG.

Noticiário — Reintegração do Diretor efetivo VII

Comissão Internacional de Nomenclatura Zoológica XIII

1. — BÜCHERL, Wolfgang — Dosagem comparada da atividade dos extratos glandulares e do veneno puro de *Phoneutria nigriventer* (Keyserling), 1891 1

2. — RUIZ, José M. — Esquistossomose Experimental. 4 — *Nasua narica* e *Didelphis paraguayensis*, animais sensíveis à infestação experimental pelo *Schistosoma mansoni* 23

3. — RUIZ, José M. — Processo rápido de perfusão do sistema porta de mamíferos para coleta de esquistossomatídeos, aplicavel aos trabalhos de campo 29

4. — BRANDI, Catharina M. W., CABIB, E. & PRADO, J. L. — Identificação cromatográfica de adrenalina e arterenol na adrenal de ofídios 35
Chromatographic identification of adrenaline and arterenol in snake adrenals. 39

5. — RUIZ, José M. — Contribuição ao conhecimento das formas larvárias de trematóides brasileiros. 4 Nota sobre o sistema excretor da cercária de *Schistosoma mansoni* 45

6 — HOEHNE, L. & ROSENFELD, G. — Estudos de hematologia comparada. — II. Dados hematológicos do cachorro do mato, *Cerdocyon thous azarae*. (Wied, 1826) 55
Studies of comparative hematology. II — Hematological data of *Cerdocyon thous azarae* (Wied, 1826) (Cachorro do Mato) 59

7. — ROSENFELD, G. & HOEHNE, L. — Estudos de hematologia comparada. — III. Dados hematimétricos do cachorro doméstico 67
Studies of comparative hematology. III — Hematimetric data of the domestic dog 69

8. — RUIZ, José M. — Contribuição ao estudo das formas larvárias de trematóides brasileiros. 5 — Descrição de tres furco-cercárias que ocorrem em planorbídeos hospedeiros do *Schistosoma mansoni*. 77


cm 1 2 3 4 5 6 SciELO 10 11 12 13 14 15

NOTICIARIO

REINTEGRAÇÃO DO DIRETOR EFECTIVO

Em cumprimento de sentença do Poder Judiciário, o sr. Governador do Estado de São Paulo mandou reintegrar, pelo Decreto No. 22.827, de 27 de Outubro de 1953, o dr. Afrânio do Amaral no cargo de Director efectivo deste Instituto.

Por ocasião de sua posse, que contou com a presença de todo o funcionalismo do Instituto, do representante do sr. Secretário da Saude Pública e da Assistência Social, além de delegados de organizações cientificas e culturais, professores universitários, membros da magistratura, do ministério público, da Academia Paulista de Letras, da Escola Paulista de Medicina, do P.E.N. Club do Brasil, e de entidades assistenciais em nosso meio, o dr. Afrânio do Amaral pronunciou o seguinte discurso:

"Ausente, durante cerca de três lustros, deste templo de ciência, retomo, neste momento, o exercício do culto que, contra a minha vontade e a meu pezar, os acidentes da vida administrativa do Estado e do Brasil me levaram a interromper. E o retomo com aquela mesma disposição de espírito que cerca a função de cargo público de uma mística que, por pouco, não desertou a vida do país. Foi realmente — justo é que o assinale — essa mística que, no passado, me deu forças para defender a supremacia da moral administrativa, por isso mesmo que chegou a ser compreendida pela parte sensata da colectividade a que pertenço, e em quem tenho plena consciência de haver conseguido despertar o sentimento de confiança de que me era mister para a cabal consecução dos elevados objectivos que sempre me inspiraram na administração deste nosso estabelecimento científico.

O momento que o Brasil está vivendo é de inequívoca reivindicação, assim no campo político, como na esfera social. Comporta, pois, retrospectos. De modo particular, é-me grata a assinalação disso, porque permite a enquadração de determinados acontecimentos, de perto condicentes com a evolução deste Instituto, no âmbito do desenvolvimento por que vem São Paulo passando nestes últimos anos.

Meus amigos:

Pela quarta vez reserva-me o destino o ensejo de ser chamado a reorganizar este estabelecimento, cuja fama durante tanto tempo conseguiu focalizar a atenção dos centros cultos do mundo. E não resisto, confesso-vos, à necessidade de uma retroação que julgo indispensável, dadas as circunstâncias que me trouxeram a este retôrno.

Em 1919, quando me estava iniciando na integração da vida de pesquisas deste núcleo científico, fui convidado a acompanhar com os demais assistentes e auxiliares técnicos o saudoso mestre Vital Brazil, sábio a que a nação brasileira deve inestimável soma de serviços. Havia-se ele aposentado no cargo de Director desta casa e ia organizar em

Niteroi um estabelecimento congênere, a que emprestaria o imenso prestigio de seu nome. Abri mão do honroso convite, única a exclusivamente para continuar a prestar a São Paulo e, de modo particular, a este Instituto, os serviços que a minha consciencia e dedicação me aconselhavam. Aqui fiquei. E assim agi para poder colaborar na tarefa a que se impusera o pranteado Florêncio Gomes, sucessor do mestre que se ausentava, de modo a garantir a continuidade dos serviços desta casa, a bem dos legitimos interesses da ciência e da saude pública do Estado. Aconteceu, porém, que, pouco depois, o grande Florêncio Gomes era vitimado pela gripe que se alastrou de maneira epidémica por todo o mundo logo após a 1.ª guerra mundial, sendo eu, nessa oportunidade, promovido a assistente e chefe da principal secção do Butantan. Ao ser promovido, assumi para com o govêrno paulista o compromisso de não deixar perecer nenhuma das actividades que aqui se exerciam. Tal circunstância, embora favorável a mim, nem por isso deixou de custar-me anos a fio de completo sacrificio de minha vida social. Não obstante, tive a sorte de encontrar, nessa ocasião, vários moços, e entre eles o meu muito saudoso Lemos Monteiro, que se dispuseram a colaborar comigo na manutenção dos serviços de pesquisa e produção afectos a este tradicional estabelecimento, a que me afeiçoara de modo extraordinário.

Durou dois anos esse período de transição. Nele, devotei-me inteiramente à vida científica do Butantan. Até que, com a inauguração do novo quatriénio governamental, fui, em 1921, surpreendido com o meu comissionamento no cargo de Director. Contava, então, 26 anos apenas de idade. Natural, pois, é que me não sentisse com forças suficientes para realizar uma obra de tamanha envergadura como aquela que redundaria na ampliação do nosso campo de actividade, através dos novos dominios que a ciência mundial estava abrindo. Senti, ante essa conjuntura e de modo como jamais me ocorrera, a necessidade de aprofundar os meus conhecimentos. Resolvi, daí, aproveitar o prémio de viagem que me fora concedido pelo governo federal, quando do término do meu curso médico na gloriosa Faculdade da Bahia. E fui especializar-me, junto aos principais centros científicos estrangeiros, nas disciplinas confinantes com as finalidades essenciais deste Instituto. Foi uma questão de consciência essa que me levou a forrar-me de melhor base que, mais tarde, me habilitaria a acompanhar as várias ordens de pesquisas aqui objectivadas.

Ao regressar, trazia comigo, entre outros titulos obtidos com as minhas actividades cientificas em solo norte-americano, o de doutor em Higiene (e Medicina Tropical), pela tradicional Universidade de Harvard. E, talvez pela forma como me houvera nos centros culturais do exterior, mal havia regressado ao Brasil, fui aquinhoado com um honroso convite, este de maior vulto e significação, porque singular, para ir organizar e dirigir nos Estados Unidos os serviços anti-ofídicos dessa grande nação amiga. Excusado será dizer que aceitei a incumbência que me foi cometida pelo nosso govêrno federal. E parti, embora à minha custa, dado que, à última hora, o titular da pasta do Interior de São Paulo, movido certamente por intrigas de que a minha actuação na vida pública tem sido alvo quase constante, e esquecido de que era essa a única oportunidade que o Brasil jamais tivera de ver um filho seu distinguido com tamanho encargo dentro da esfera de colaboração científica internacional, não só criou embaraço à minha ida, como determinou até a suspensão dos vencimentos a que eu tinha direito como funcionário, comissionado para representar a nossa ciência no exterior. Mas, em compensação, manda a justiça que o declare, e pela primeira vez o faço, as instituições norte-americanas interessadas no assunto resolveram, não sòmente remunerar generosamente os meus serviços lá, como, ao termo da minha missão, trataram, por iniciativa da Academia de Ciências e do Conselho Municipal de Filadélfia, de conferir-me apreciável fundo em dinheiro, além do prémio "John Scott", que representava o seu reconhecimento à colaboração que lhes eu havia dado.

Mal tinha eu ultimado a organização do Antivenin Institute of America, eis que o nosso govêrno, em mensagem que muito me captivou, me convida para vir, pela segunda vez, assumir a direcção desta casa.

Estávamos em 1928. Aqui chegado, procurei dotar este estabelecimento de melhores e maiores recursos materiais e pessoais, a fim de dar-lhe a possibilidade de acompanhar o progresso que a ciência havia realizado nos países mais adiantados. Com efeito, do programa por mim elaborado em 1927 e prèviamente aceito pelo govêrno, programa que significou a condição mesma do meu regresso a este cenáculo de pesquisas, era parte integrante a criação, que logo tratei de iniciar, de vários departamentos, até então inexistentes em toda a América Latina e na maioria das nações civilizadas, a saber: Química e Fisico-química Experimentais, Fisiopatologia Experimental (com Endocrinologia e Farmacologia), Genética Experimental e Virus e Virusterapia.

Foi então que imprimi a este Instituto orientação autárquica, no intuito precípuo de fazê-lo sobreviver às repetidas intromissões da politica partidária, decorrentes das mutações que se verificam periódica e repetidamente na alta administração do Estado. Com indescritivel esfôrço, consegui, àquela altura dos acontecimentos, realizar uma boa parte de meu programa, mau grado as inenarráveis dificuldades financeiras que surgiram como consequência das alterações políticas de 1930 e 1932. Tais dificuldades afinal culminaram no desvirtuamento de que foi vítima o Instituto, durante breve interregno decorrente de nova viagem por mim feita ao Velho Mundo.

Em pouco tempo, tudo se transformou. E o que ocorreu é história de ontem, que vem recordada em prefácio de meu livro "Serpentes em Crise", que Monteiro Lobato vasou em estilo que lembra as páginas mais brilhantes de Anatole France.

Ultrapassado mais esse escolho, voltei pela terceira vez a reorganizar este centro de cultura, que tão de perto me toca ao coração. E prossegui na execução daquele meu programa, como se nada acontecera.

Todavia, a incompreensão de nossos administradores, tão afeitos às manifestações personalísticas, logo deu de turbar a marcha tranquila e fecunda que o Instituto vinha levando. Não fora isso, e o Butantan, graças à dedicada colaboração da magnífica plêiade de técnicos que aqui se aconchegara ao recesso da ciência, houvera certamente atingido às culminâncias de sua vida, conseguindo ombrear-se aos principais centros cientificos do mundo civilizado. Mas assim não entenderam os homens que no Brasil militam na política. Dada a subversão que em 1938 se verificou na orientação administrativa do Estado, vi-me novamente afastado do cargo que me pertence de direito, e a cujo exercício, decorridos quinze anos, hoje retorno por sentença judicial, disposto, como sempre, a tudo dar de mim, de minha experiência, de minha capacidade de trabalho, do resto de energia que me sobra, em proveito desta casa que, por entender minha também, desejo vivamente ver apta a suprimir todas as deficiências existentes na sua órbita cientifica, engrandecida e, como ontem, atualizada às horas correntes.

— Senhores:

O momento que o Brasil está vivendo, sendo de reivindicação, é também de definição e prestação de contas. E aqui estou para prestar contas e definir-me.

Recebi, por fôrça de sentença judicial, os proventos inerentes ao meu cargo e relativos aos três ultimos lustros, sem que tivesse podido prestar serviços directos a esta instituição. Devo, pois, nesta oportunidade e a todos os contribuintes paulistas, esclarecer que, nesse meio-tempo, continuei a trabalhar em assuntos relacionados com o interêsse público.

Entre essas actividades peço vênia para mencionar as mais importantes, a saber:

Solicitado pelo governo federal, tomei parte activa na reorganização, sem ônus para a colectividade nem para a instituição favorecida, de todos os serviços afectos à Cruz Vermelha de São Paulo, assumindo mesmo a corresponsabilidade do pagamento de vultosas dívidas acumuladas pela directoria cujos desmandos me coube reparar; e, ao me afastar de sua presidência, juntamente com os outros directores e dedicados companheiros, não só havia saldado todos os débitos dessa associação, como deixei, em depósito bancário vinculado, quase Cr.$ 1.000.000,00 de saldo (em moeda de valor aquisitivo quase triplo do atual), para futuras aplicações.

Condoído com a situação de nossa infância desvalida, restaurei gratuitamente os serviços do Hospital de Crianças de Indianópolis, onde também pus em perfeito funcionamento o ambulatório que passou a servir a extensa zona que vai do Ibirapuera a Santo Amaro.

Impressionado com as perdas sofridas por nossa insuficiente produção de leite e de artigos agro-pecuários, dirigi minha atenção para o problema de sua conserva mediante prévia desidratação; tratados desse modo os produtos, a redução de seu volume passa a desafogar a situação e a baixar o custo do transporte.

Alarmado com a precariedade de nossa produção carbonífera, dediquei bastante tempo, juntamente com um pugilo de amigos que como eu se dispôs a manter sempre presente no espírito a imagem do Brasil esfarrapado, à descoberta de um processo, nimiamente nacional, que se prestasse especificamente ao aproveitamento do nosso riquíssimo minério de ferro, para produção de aços nobres, sem necessidade de aquisição de hulha ou coque importados do estrangeiro, e conseqüente desafogo de nossa balança do comércio exterior.

Comiserado com a situação de fome ou subnutrição e anemia que prevalece em extensas zonas de nosso Interior e devida ao baixo teor de proteínas dos alimentos consumidos pelas classes desprotegidas de assistência, colaborei ativamente em extenso trabalho de pesquisa e industrialização, para aproveitamento da soja como fonte ideal de nutrimento para o pobre.

Não satisfeito com essa minha incursão pelos domínios da técnica aplicada ao desenvolvimento racional das fontes de economia, dei de cooperar, na medida de minhas forças, com essa generosa e magnífica Confederação das Famílias Cristãs, à frente de cujo Centro de Estudos me coube estudar graves problemas econômico-sociais que nos vivem a angustiar, e principalmente aqueles que bem de perto concernem ao empobrecimento da classe média, à educação da prole, ao custo da medicação e à prostituição em geral.

E, para culminar as minhas actividades nesse terreno, passei a colaborar nessa campanha, que a todos nós nos empolga na hora presente, de levantamento de fundos para a assistência social na Paulicéia, campanha que atende ao simbolismo monogramático de F. A. S., de cuja Comissão Central quis a generosidade dos meus companheiros de ideal passasse eu a ocupar o cargo de Presidente.

Acostumado desde a minha infância a madrugar no estudo ou no trabalho, sem que jamais houvesse dado ao Sol o prazer de despertar-me, ainda achei tempo, em minhas longas vigílias, para realizar certas pesquisas científicas.

Impossibilitado, durante alguns anos, de publicar em nosso meio, aceitei o convite com que me distinguiram vários editores anglo-americanos de tratados e enciclopedias e com eles me pus a colaborar estreitamente; preparei então os capítulos com que a ciência brasileira surgiria representada em trabalhos do vulto de Living Medicine (de Nelson), Newer Knowledge of Bacteriology and Immunology (de Jordan & Falk), Cyclopaedia of Medicine (de Piersol), Syllabus and Practice of Pediatrics (de Brennemann), Text-book of Medicine (de Cecil), Clinical Tropical Medicine (de Gradwohl), além do tratado hispano-americano de Ros — Manual de Terapeutica Clinica.

Consegui, outrossim, incrementar, nesse longo entretanto, as minhas relações com a Comissão Internacional de Nomenclatura Zoológica, para cujo seio entrei em 1935 como representante dos povos de língua portuguesa. Promovido, com surpresa, à vice-presidência da Junta Executiva, sediada em Londres, desse prestante órgão, pelo voto unânime dos delegados ao 12.º Congresso de Zoologia (de Paris), entreguei-me à tarefa de harmonizar pontos de vista divergentes com que perante nós se apresentavam alguns delegados de nações amigas; e, últimamente, pela morte de meu colega na Universidade de Harvard, o prof. J. L. Peters, passei ao exercício da presidência dessa Comissão. Desse cargo, todavia, resolvi abrir mão logo depois, preferindo permanecer na vice-presidência, visto como me convenci de que o Brasil ainda não está preparado para compreender a importância dessas actividades nem em condições de assumir os encargos delas resultantes.

Eis aí onde apliquei as verbas que recebi. Eis aí tudo o que tenho feito para retribuir de algum modo o sacrifício que a todos os contribuintes paulistas foi imposto durante esses 15 anos para sustentar-me como funcionário sem função. Se mais não fiz é porque não pude nem me foi permitido fazer.

Finalmente, devo declarar que, muito antes de se tornar efectiva a decisão da Justiça no tocante à minha reintegração, tratei de eliminar quaisquer ligações com empresas de natureza comercial ou industrial que, à luz do Estatuto dos Funcionários Públicos, pudessem de algum modo incompatibilizar-me para a retomada do cargo oficial que ora volto a exercer.

— Eu poderia, Senhores, agora que os Tribunais de Justiça do País, pela unanimidade de seus membros, fulminaram, em pleno regime de excepção, de ilegal e indevido o afastamento que me foi imposto, eu poderia, repito, estar pensando na minha aposentadoria e no descanso, a que tenho direito, das lutas que venho mantendo em toda a escalada de minha existência de homem de estudo, de pesquisa e administração.

Todavia não o faço. Bem sei que muitos patrícios nossos, mal apercebidos das modificações que se operam no ambiente psicológico nacional, vivem a estranhar que, podendo aposentar-me com todas as regalias do meu cargo, eu me disponha a sacrificar os últimos dias de minha vida com os ônus e percalços que decorrem do exercício de qualquer função administrativa em nosso meio. Poderia realmente aposentar-me com vantagem, não sòmente, porque venho, desde 1947, recebendo do Tesouro do Estado todos os proventos deste posto, senão também porque seria perfeitamente cabível dar agora por encerrada a minha actividade científica no Brasil e no estrangeiro. Estou, porém, decidido a continuar a emprestar ao Estado e ao Brasil quanto em mim exista de capacidade de acção e honestidade de propósito. Mais do que nunca, disponho-me a retomar, ampliado e actualizado, o programa de dantes, movido tão sòmente pelo sonho de dar a este nosso templo, com o carinho que sempre me mereceu e com o orgulho que dele tenho, todos os elementos novamente necessários à sua elevação no cenário científico nacional e internacional. Conto, para tanto, com a protecção de Deus e com a compreensão de todos quantos aqui irão colaborar comigo.

Não trago rancores nem prevenções calculadas. Trago, sim, boa vontade para com aqueles que se dignarem de auxiliar-me devidamente a dar à colectividade, que nos mantém com os seus tributos, a recompensa que tem ela de nós o direito de exigir. No íntimo do meu ser, sinto, incoercível, o impulso das arrancadas viris em favor do reerguimento deste nosso pequenino mundo que tanto benefício pode semear pelo vastíssimo mundo dos que sofrem e estão sempre à espera do cumprimento de nosso apostolado científico".


cm 1 2 3 4 5 6 SciELO 10 11 12 13 14 15

COMISSÃO INTERNACIONAL DE NOMENCLATURA ZOOLÓGICA

Notícia sôbre Publicação de interêsse para zoólogos

Pouco depois do encerramento do XIV.º Congresso Internacional de Zoologia, realizado em Copenhague em Agôsto de 1953, o sr. Francis Hemming, Diretor Administrativo de "The International Trust for Zoological Nomenclature", distribuiu, em inglês, importante notícia sôbre a publicação de um livro, que estava sendo editado por aquela Organização, para conhecimento, por parte de todos os zoólogos, das numerosas decisões tomadas pelo Colóquio sôbre Nomenclatura Zoológica (1.ª Conferência de Nomenclatura Zoológica) e, em seguida, aprovadas pelo plenário do referido Congresso.

O texto dessa notícia é que ora se divulga em português, para conhecimento dos interessados no Brasil e em Portugal:

"Nomenclatura Zoológica: Aditamentos e Modificações do Código Internacional de Nomenclatura Zoológica, adotados pelo XIV.º Congresso Internacional de Zoologia, em Copenhague, em Agôsto de 1953.

por FRANCIS HEMMING

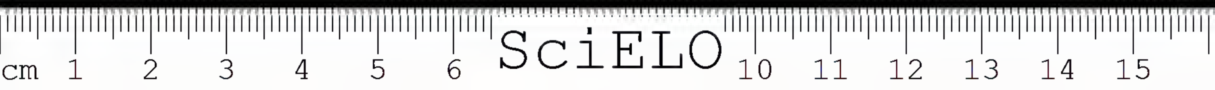
(Diretor Administrativo de The International Trust for Zoological Nomenclature).

O "The International Trust for Zoological Nomenclature" tem o prazer de anunciar que está tratando de publicar o mais cedo possível o Relatório Oficial das decisões que tratam dos aditamentos e das modificações introduzidos no Código Internacional de Nomenclatura Zoológica e adotados pelo XIV Congresso Internacional de Zoologia, em Copenhague, em Agôsto de 1953. Tais decisões são de particular importância a quantos trabalham em Zoologia Sistemática, visto como dizem respeito a certo número de problemas fundamentais que ficaram adiados, para estudo subseqüente, pelo XIII Congresso (Paris, 1948), e, igualmente, representam revisão e, nalguns casos, modificação de decisões tomadas pelo Congresso de Paris. O trabalho empreendido pelo Congresso de Copenhague completa a reforma do Código iniciada pelo Congresso de Paris. E tomaram-se as necessárias providências para fazer-se, tão cedo quanto possível, o preparo e publicação do texto revisto do Código, incorporando-se nele as decisões tomadas pelos Congressos de Paris e de Copenhague. Todavia, até que o texto revisto do Código possa ser publicado, decorrerá, inevitàvelmente, considerável período, pois será necessário, primeiro, preparar ambos os textos,

o inglês e o francês (de que o último se tornará afinal o único texto substantivo), e, segundo, publicar ambos êsses textos sob a forma de esbôço, de modo a dar aos especialistas a oportunidade de verificarem que ambos se acham em completo acôrdo com as decisões tomadas em Paris e Copenhague. O Congresso de Copenhague, entretanto, exprimiu a esperança de que, no período antecedente à publicação do texto revisto do Código, os especialistas pudessem guiar-se pelas decisões tomadas pelo referido Congresso. Com o fim de possibilitar êsse objetivo é que o Internacional Trust tomou a si a tarefa de publicar, o mais breve possível, um livro em que se compendiem as decisões tomadas pelo Congresso de Copenhague. Tal livro tornar-se-á indispensável a todos os taxonomistas, visto como constituirá, até a publicação do texto revisto do Código, a fonte única em que poderão êles obter informações minuciosas sôbre as decisões de Copenhague.

O livro a ser brevemente publicado pelo Trust é, em forma, o Relatório unânimemente adotado pelo Colóquio de Nomenclatura Zoológica que se realizou na semana antecedente e durante o Congresso de Copenhague. O aludido Relatório não foi finalmente aprovado pelo Colóquio senão no último dia de reunião do Congresso de Copenhague, objectivando-se com isso incluir nele quaisquer sugestões que pudessem ser oferecidas pela Comissão Internacional de Nomenclatura Zoológica ou pela Secção de Nomenclatura do próprio Congresso. Na forma final que foi adotada, o Relatório foi aprovado unânimemente pelo Colóquio e, igualmente, pela Comissão Internacional e pela Secção de Nomenclatura do Congresso; em seguida, mediante recomendação feita por êsses tres órgãos, foi êle submetido à consideração e unânimemente aprovado pelo Concilium Plenum final do Congresso de Copenhague, reunido na tarde do dia 12 de Agôsto de 1953.

O Colóquio de Nomenclatura Zoológica, que preparou o presente Relatório, constitúi novo desenvolvimento no campo de consultas internacionais. Consciente da extrema importância do Congresso de Copenhague como o organismo a que competiria completar a presente revisão do Código Internacional e sob cuja autoridade seria publicado o Código revisto, o International Trust for Zoological Nomenclature, na qualidade de organização responsável pela gerência dos assuntos administrativos da Comissão Internacional de Nomenclatura Zoológica, decidiu, em 1952, adotar medidas originais e do mais compreensivo caráter para assegurar a discussão mais ampla possível de tôdas as propostas tendentes a nova melhora do Código Internacional antes de serem tais propostas submetidas ao exame da Comissão Internacional e à decisão do Congresso. Para êsse fim, mediante a assistência de contribuições financeiras recebidas da Organização Educacional, Científica e Cultural das Nações (U. N. E. S. C. O.) e da União Inter-

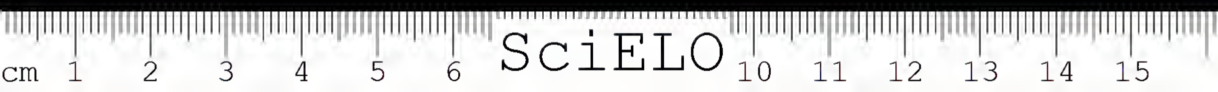


nacional para as Ciências Biológicas (I.U.B.S.), o International Trust decidiu promover uma reunião, a realizar-se na semana antecedente à da abertura do Congresso de Copenhague, para a qual foram convidadas a enviar representantes tôdas as Juntas de Nomenclatura de Museus e de outras instituições zoológicas conhecidas da Comissão Internacional e a cujas sessões foram, por meio de convites pessoais, ainda convidados a comparecer os zoólogos — tanto neontólogos quanto paleontólogos — sabidamente interessados em problemas de nomenclatura zoológica. Outrossim, o Trust dedicou dois volumes completos (N.os 8 e 10) de seu "Bulletin of Zoological Nomenclature" à publicação de todo o material que fôra reunido para ser examinado em Copenhague. As reuniões do Colóquio contaram com a presença de cêrca de 50 especialistas, muitos dos quais eram os delegados de grandes Museus e Instituições Científicas. A composição do Colóquio foi dividida mais ou menos igualmente entre o Velho Mundo e o Novo Mundo. Nessas condições, por motivo, não sòmente de seu caráter representativo, como também das medidas excepcionais que foram tomadas para o meticuloso preparo de sua Agenda de trabalhos, o Colóquio de Nomenclatura Zoológica, em Copenhague, possuia dos problemas pendentes um conhecimento sem paralelo em qualquer prévia assembléia internacional de zoólogos.

O Relatório do Colóquio de Nomenclatura Zoológica está sendo publicado pelo Trust, em volume encadernado, ao preço de cinco chelins (ou setenta e cinco centavos americanos), livre de porte. Mediante pedido, podem-se obter exemplares, dirigindo-se ao International Trust for Zoological Nomenclature, Publications Office, 41 Queen's Gate, Londres S.W.7, Inglaterra. Espera-se que a publicação possa começar a ser distribuida dentro das próximas 5 ou 6 semanas, isto é, a partir de Outubro de 1953.

Londres, 22 de Agôsto de 1953."

(Tradução de Afrânio do Amaral)




cm 1 2 3 4 5 6
SciELO
10 11 12 13 14 15

DOSAGEM COMPARADA DA ATIVIDADE DOS EXTRATOS GLANDULARES E DO VENENO PURO DE PHONEUTRIA NIGRIVENTER (Keyserling), 1891 (*)

POR WOLFGANG BÜCHERL
(*Laboratório de Zoologia Médica, Instituto Butantan*)

I INTRODUÇÃO

Os acidentes humanos, provocados pela picada de *Phoneutria nigriventer* (*), da família *CTENIDAE*, subfamília *CTENINAE*, costumam ser classificados pelos médicos clínicos em casos leves, de média gravidade, gravíssimos e fatais.

São nove os casos mortais, humanos, documentados por médicos competentes.

Vital Brazil e Jean Vellard (1) referem-se a 1 caso de morte de um homem de 40 anos, ocorrido em Itanhaem e relatado pelo Dr. Novais; de um menino de 7 anos que morreu 17 horas depois de picado e cujo caso foi publicado pelo Dr. Luiz Guimarães (2); mais um acidente, ocorrido em Jaú e relatado pelo Dr. Paulo Martins.

J. Vellard (3) comenta o acidente fatal de um menino de 10 anos, morto meia hora depois de picado. O fato foi relatado pelo Dr. Francisco Gusmão; o de uma moça, de Taubaté, que morreu 20 horas depois.

O facultativo Francisco Gusmão comunicou mais 3 casos de morte, ocorridos em Franca, dois de escravos de um fazendeiro e o terceiro de um preto adulto, que teve morte já depois de algumas horas após o acidente.

Flavio da Fonseca (4), interpretando os boletins de acidentados, enviados continuamente ao Instituto Butantan, encontrou um caso de morte apesar da soroterapia.

Entre os casos reconhecidamente *gravíssimos* e que devem somar a muito mais do que os fatais mencionados, cita o próprio Vellard (3) dois, por ele mesmo observados e que traduzem a resposta dramática do organismo humano à peçonha dêste aracnídeo.

Entregue para publicação em 7.XI.53.

*) *Phoneutria nigriventer* parece-nos idêntica a *Ph. fera*, como será demonstrado oportunamente.



Casos de *média gravidade* e *leves* são enumerados às *centenas,* tanto nos boletins sanitários, enviados ao Instituto, como tratados pelo próprio Hospital que o Butantan mantém para socorrer os acidentados por animal peçonhento.

Em face dêstes acontecimentos, não hesitaram Vital Brazil e seu colaborador Jean Vellard (5) em realizar experiências de laboratório, as mais variadas, tanto com a aranha *Phoneutria fera* como com *Phoneutria nigriventer* (por êles chamadas *Ctenus ferus* e *Ctenus nigriventer,* respectivamente). Estas pesquisas se estendiam durante os anos de 1925 e 1926; partiam de picadas diretas em animais de laboratório, de extratos de venenos, de venenos puros, em soluções e culminaram com a fabricação de um *sôro específico anti-ctenídico.*" (*)

Pelo presente trabalho, pretende-se recapitular, de um lado, o que já foi feito pelos grandes mestres Vital Brazil e Jean Vellard e, por outro, quer-se contribuir para uma melhoria dos processos do doseamento das peçonhas, da própria imunização e da titulação dos sôros específicos.

2. OBTENÇÃO DAS GLÂNDULAS E DO VENENO PURO DE PH. NIGRIVENTER

Para a obtenção das glândulas inteiras, cheias de peçonha, segue-se ainda hoje o processo descrito em 1925 por Brazil e Vellard e que consiste em narcotizar as aranhas vivas; segurar com pinça denteada as bases das quelíceras e, descrevendo-se um movimento para cima, puxar as mesmas. Obtêm-se, então, as duas glândulas presas às quelíceras apenas pelo canal eferente do veneno.

Pode-se, então, separar as glândulas e triturá-las, sòzinhas ou mesmo juntamente com as quelíceras, em gral de vidro, adicionando-se, como solvente, água destilada com cloreto de sódio a 0,85%, em pH acidificado, neutro ou alcalino.

Quando se pretende trabalhar com grande número de glândulas, retiram-se estas, como foi descrito, e guardam-se em glicerina pura, a 3.° C de temperatura.

O processo do esmagamento total da glândula inteira, com ou sem os ferrões, fornece necessàriamente extratos que, além da peçonha, contêm quantidades variáveis e incontroláveis de elementos estranhos, celulares, musculares, da quitina, etc..

Por êste motivo, almejaram já os próprios Brazil e Vellard por um método que permitisse obter sòmente a peçonha, em estado tão puro quanto pos-

---

(*) Sugerimos a substituição do nome "Soro anti-ctênico" pela de "anti-ctenídico" para incluir também o gênero *Phoneutria.*

sível e isento de substâncias proteiniformes estranhas. Ideiaram e realizaram, já em 1926, o seguinte processo: Extraíam-se as glândulas da maneira costumeira; lavavam-se as mesmas em água; secavam-se na estufa e quando sêcas, pesavam-se. Depois, imergiam-se em salina e após embebimento, espremiam-se de leve com um bastonete de vidro, indo o veneno naturalmente dissolver-se na salina; retiravam-se os envólucros vazios; secavam-se e *repesavam-se*. A diferença das duas pesadas dava a quantidade exata da peçonha obtida, conhecida através do volume determinado de líquido solvente.

Algum tempo mais tarde, modificou Jean Vellard (3) um detalhe dêste processo, isto é, substituiu a espressão com bastonete pela secção da glândula com pequeno bisturi, conservando as duas pesadas.

A bem dizer, os pesquisadores obtiveram o veneno puro, mas apenas em soluções. As duas pesadas, uma vez com a glândula cheia, outra vez com ela vazia, também poderiam ter sido fontes de insegurança; finalmente, não se podia com êste método fazer estoque de veneno puro, o que constituia certamente o inconveniente maior.

Em todo o caso, verificaram os autores que a média de veneno puro, por indivíduo, era em *Phoneutria fera* em torno de 4 mg e em *Phoneutria nigriventer* perto de 3,2 mg.

Elaborámos um *processo novo* que permite colher o veneno absolutamente puro, sem prejudicar a aranha, de maneira que a mesma pode ser "reextraida" cada 10 ou mesmo cada 5 dias, dando novamente uma determinada quantidade de peçonha.

Com duas pipetas longas, unidas em seus extremos por um tubo de borracha fina e elástica, antes lavado, esterilizado e completamente sêco, irritam-se as aranhas, mantidas e alimentadas em pequenos viveiros; estas, dotadas de índole agressiva, não tardam a morder no tubo de borracha, perfurando-o com seus ferrões e depositando em seu interior duas gôtas de veneno. Com um capilar colhe-se a peçonha, por ventura aderente à superfície externa do tubo, que se passa então à outra aranha, até que o interior do mesmo apresente bastantes gôtas de veneno líquido. Desliga-se um terminal e assopra-se o veneno sôbre uma placa rasa, antes bem lavada e sêca. Finalmente espreme-se o resto da peçonha, por ventura aderente às paredes internas do tubo, sobre o mesmo vidro.

Seca-se o veneno em dessecador, em vácuo. Quando bem sêco, pesa-se o veneno sôbre um vidrinho de relógio, antes exatamente tarado. Obtêm-se assim o veneno puro, em estado sêco, exàtamente ponderável em miligramas e que pode ser guardado em vácuo, sobre clorêto de cálcio, em ambiente escuro

ajuntando-se ao estoque a colheita de outras fracções da mesma peçonha, obtida por novas extrações das mesmas aranhas.

Êste processo de *obtenção de veneno puro, sêco*, além de permitir a estocagem e a colheita de maiores quantidades, possibilita igualmente *titulações* experimentais rigorosas e reproduzíveis, bem como *imunizar* cavalos com a peçonha isenta de proteinas estranhas.

Com êste processo conseguímos, desde 11 de Junho até 4 de Novembro, obter em tôrno de 130 miligramas de veneno sêco de *Phoneutria nigriventer*.

Nos mêses de frio (Junho até Setembro) temos colhido as seguintes médias em miligramas, por aranha:

quantidade mínima .... 0,03 mg;
quantidade média .... 0,44 mg;
quantidade máxima .... 1,84 mg.

A *quantidade máxima individual* varia bastante, principalmente em dependência da *temperatura* e *alimentação*. Sobrevindo nos mêses de Outubro e Novembro uma onda de calor prolongada, com a média de temperatura em torno de 23 °C que deverá ser considerada como "ótima" para estas aranhas, pudemos colher as seguintes quantidades máximas individuais:

em 26 de Outubro .... 3,10 miligramas;
em 3 de Novembro .... 4,00 " "
em 4 de Novembro .... 5,00 " "
em 31 de Outubro .... 8,00 " "

A média também se tem elevado consideràvelmente, ficando em tôrno de 1 mg — 1,7 mg.

É verdade que, no afã de averiguar o "quantum" de veneno sêco que uma aranha poderia eventualmente inocular em picadas repetidas, temos insistido com cada aranha, de maneira que ela picasse *diversas vêzes* no tubo de borracha, mas mesmo assim deve-se ter presente que sempre se tratou sòmente de picadas diretas, isto é, de quantidades de peçonha que uma aranha é capaz de largar e inocular numa ou mais picadas.

Compreende-se agora perfeitamente a justeza das afirmações de antigos experimentadores de que no *verão* a peçonha era mais ativa do que no *inverno*. Não é mais ativa (como veremos depois), mas é inoculada em maior quantidade, revestindo-se lògicamente de maior gravidade os acidentes humanos, ocorridos no verão.

3. PREPARO DOS SOLUTOS VENENÍFEROS

a) *Extratos glandulares:* (Tabela I)

Com as glândulas totais, extraídas de aracnídeos vivos, Vital Brazil e Jean Vellard (1 e 5) prepararam os seguintes extratos:

Extrato A: — 1 — 2 glândulas em 0,5 cc de sol. fisiológico, empregado para experiências de atividade com ou sem prévia filtração por papel; pH ácido (em tôrno de 5).

Extrato B: — 1 — 2 glândulas totais em 0,5 cc de *agua de cal;* pH em torno de 8; empregado depois de filtração por papel.

No intuito de repetir as experiências dos dois grandes mestres e pioneiros, preparámos, entre outros, os seguintes solutos:

Extrato G: — 1 glândula fresca em 1 cc de sol. fisiológico, em pH 5 e empregado depois de filtração por papel.

Extrato H: — 1 glândula em 1 cc de sol. fisiol., mas com pH em torno de 8 e filtração por papel.

Extratos I-J-K: — Glândulas guardadas durante 10 a 40 dias em glicerina com pH em torno de 5, a baixa temperatura (3.° C), eram retiradas da glicerina, trituradas em gral, adicionando-se sol. fisiológico na proporção de 1.5 cc para 1 glandula; deixava-se macerar e centrifugava-se. Ao resíduo adicionava-se novamente 1.5 cc de sol. fisiol. por glândula; houve nova maceração e centrifugação; o resíduo recebia novamente 1,5 cc de sol. fisiol. e fez-se a terceira centrifugação: o resíduo foi redissolvido pela quarta vez com sol. fisiol. e mais uma centrifugação foi feita.

Como resultado obtivemos solutos veneníferos, com *dissolução completa* da peçonha, independentemente do pH. A filtração por papel era dispensável.

O Soluto I foi feito com sôro fisiológico em pH 8; soluto J apresentava pH 5 e o soluto K pH 6, 5. Os tres solutos não mais eram concentrados nas proporções dadas por Brazil e Vellard e imitadas por nós nos solutos G e H, mas feitos nas proporções de 1 glândula em 6 cc de solvente, com 4 lavagens e centrifugações, em 3 níveis diferentes de pH.

Brazil e Vellard tinham principiado suas experiências com *Phoneutria (Ctenus* dêles), fazendo picar diretamente animais de laboratório, principalmente camundongos, que morriam ràpidamente em consequência da picada.

Querendo repetir esta experiência com solutos glandulares, imaginavam que êstes solutos deveriam ser *concentrados* o mais possível, para que os resultados pudessem ser comparados ao efeito da picada direta. Fizeram, portanto,

solutos supersaturados, em que uma grande parte da peçonha, não dissolvida, permanecia sôbre o papel de filtro.

b) *Solutos com o veneno puro:* (Tabela II)

Vital Brazil e Jean Vellard (1 e 5) e mais tarde Vellard (3) fizeram pelo método descrito um soluto do veneno puro:

Soluto C: — Soluto de veneno puro (calculado em mg pela diferença das duas pesadas da glândula cheia e vazia), feito em volume conhecido de sôro fisiológico.

Com o nosso veneno sêco, puro, exatamente ponderável fizemos, também em sôro fisiológico, os solutos D, E e F, o primeiro em pH ácido, o segundo em pH neutro e o terceiro alcalino, para a verificação da influência do pH diferente sobre a solubilidade da peçonha pura. As nossas tres soluções foram feitas na proporção de 1 mg de veneno sêco para 6 cc de líquido solvente, com 4 lavagens e 4 centrifugações; sem filtração.

4. TITULAÇÃO DA ATIVIDADE DOS SOLUTOS GLANDULARES E DO VENENO PURO:

a) *Solutos glandulares:* — (Tabela I)

Brazil e Vellard tinham determinado, conforme o costume daquela época, a *dose minima mortal*, estabelecendo ainda que o animal (camundongo) deveria morrer dentro de 1 hora após a injeção. Nós determinamos sempre a dose 50% mortal, obedecendo a técnica, descrita por Reed e Muench (6).

Embora se possa admitir, com uma certa base de aproximação, que a dose mínima mortal seja o dôbro da média mortal, há a considerar ainda, que, em se trabalhando com solutos glandulares, provenientes, portanto, de glândulas trituradas com uma quantidade de peçonha variável de aranha, não é possível, a rigor, repetir-se uma experiência.

Um outro agravante consiste no fato de Brazil e Vellard terem empregado poucos animais apenas, sanado pelas nossas titulações com várias dezenas de camundongos, do mesmo pêso.

O interêsse de um confronto entre as titulações de Brazil e Vellard e as realizadas por nós, pode visar, portanto, apenas aos seguintes problemas:

Um solvente aquoso ácido ou neutro dificultaria a solução completa da peçonha?

Esta solução se daria melhor em ambiente alcalino?

Deveriam empregar-se soluções o mais possível concentradas e filtradas: ou seria melhor usar diluições maiores, com esgotamentos diversos dos resíduos e centrifugação?

Poderiam preparar-se solutos ativos com glândulas, guardadas durante mêses em glicerina, em temperatura de 3°C?

Haveria a possibilidade de estabelecer-se um confronto de atividade entre os solutos glandulares (recentes ou glicerinados) e a peçonha pura, sêca, exatamente ponderável e titulável?

Tabela I:

Soluto A: — Dose mínima mortal por grama de camundongo, por via intramuscular 0,04 glândula (Brazil, Vellard).

Soluto G: — Dose média mortal, subcutânea, por gr. de camundongo = 0,004 glândula.

O soluto A era límpido: o G se apresentava opalescente.

Solutos feitos com o resíduo, que ficou no papel de filtro, ainda matavam camundongos, o que prova que a peçonha não se tinha dissolvido senão apenas pela metade, mais ou menos.

A mínima e média mortal podem ser consideradas como coincidentes nestes dois ensaios (sem rigorismo científico), com solventes ácidos.

Soluto B: — Dose mínima mortal por gr. de camundongo, intramuscular = 0,005 glândula; Soluto alcalino, filtrado por papel (Brazil e Vellard).

Soluto H: — Dose média mortal por gr. camundongo, subcut. =0,001 glândula.

O soluto B era fortemente opalescente. Mesmo muito concentrado, permitiu melhor solubilidade da peçonha, em comparação aos solutos A e G. Os pesquisadores não dosaram o resíduo sôbre o papel de filtro, nem mencionam se houve ou não tal resíduo.

O soluto H era opalescente; ficou um resíduo sôbre o papel de filtro que, após solução em solvente alcalino, ainda matava camundongos.

Os quatro solutos, que são perfeitamente comparáveis em atividade, provam, portanto, que não é tanto o pH que interfere na solubilidade-se bem que a alcalinidade do solvente ajude realmente a melhor solubilização — mas sim a *concentração* e filtração por papel.

Esta afirmativa é satisfatòriamente confirmada pelos *solutos I, J e K*, em que se fizeram 4 dissoluções dos resíduos da peçonha e se centrifugava

cada vez. Independentemente de pH neutro, ácido ou alcalino, conseguiram-se soluções 100 % das peçonhas, com médias mortais por gr. de camundongo via subcutânea, em tôrno de 0,0007 glândula (pH 8); 0,0008 glândula (pH neutro).

Mesmo após as 4 lavagens, ficou em cada soluto um pequeno resíduo (restos celulares e musculares, etc..). Êste foi também retomado e redissolvido, mas as titulações dêstes resíduos não revelavam mais toxicidade alguma para camundongos, mesmo em concentrações grandes.

Os tres solutos foram feitos com glândulas guardadas por longo tempo em glicerina, a frio, o que prova ser êste modo de estocagem bastante aproveitável.

A concordância das titulações da dose 50% mortal dos tres solutos e sua maior atividade em comparação aos solutos A, B, G, e H são novos indícios da bôa solubilidade, independentemente do pH.

Não nos sentimos capacitados em afirmar se a atividade um pouco maior do soluto I (pH alcalino) deva ser interpretado como em dependência do pH. Cremos que isto não se dê e que esta ligeira variação deva antes ser atribuida a que aquelas glândulas tinham realmente maior quantidade de peçonha.

A titulação do solvente, em pH 8, não revelou toxicidade alguma, por via subcutânea.

b) *Venenos puros:* — (Tabela II)

Soluto C: — 0,0005 mg = Dose mínima mortal por gr. de camundongo, por via venosa (Vellard);

0,0025 mg = Dose mínima mortal por g. de camundongo por via intramuscular (Vellard);

Solutos D, E, F: — 0,00035 mg = Dose 50% mortal por g. de camundongo via venosa;

0,0007 mg = Dose 50% mortal por g. de camundongo via subcutânea.

Os nossos tres solutos com veneno puro, sêco, exatamente ponderável em mg, revelaram solubilidade 100%, pelo método de 4 lavagens e centrifugações e com diluição final das soluções-mães de 1 mg para 6 cc de solvente; demonstraram ainda que a solubilidade independe do pH do solvente. A surpreendente concordância das titulações revela que o veneno puro, sêco e cômodamente estocável, tem sempre a mesma atividade e constitúi o ideal em peçonhas aracnídicas. Os tres solutos se apresentavam límpidos, sem um traço de opalescência.

Fica demonstrado novamente que se pode obter relativa concordância entre as titulações de Vellard (mínimas mortais) e as nossas (médias mortais).

5. IMUNIZAÇÃO COM SOLUTOS GLANDULARES E SOLUTOS DE VENENO PURO

A primeira imunização foi feita por V. Brazil, em 1925, em um carneiro. Num período de 13 dias praticaram-se 12 injeções subcutâneas diárias de um soluto glicerinado de glândulas totais, injetando-se ão todo 84,98 glândulas.

O sôro obtido neutralizava 1 mínima mortal.

Numa outra imunização de um 2.º carneiro injetaram-se em 13 semanas 268,42 glândulas, mais 296 mg de veneno puro (em solução), chegando o sôro a neutralizar 0,6 mg de peçonha de *Phonentria nigriventer*. (O mesmo animal foi injetado simultaneamente com peçonha de *Lycosa erythrognatha* = *L. raptoria* de Brazil e Vellard).

Um terceiro carneiro finalmente recebeu 114 mg de veneno puro, em 8 semanas de injeções (3 injeções semanalmente) hipodérmicas, protegendo 1 cc do sôro contra 0,6 mg de veneno puro.

Um quarto carneiro recebeu em 9 semanas 239 mg de veneno puro por via intradérmica, neutralizando 1 cc do sôro 0,8 mg de peçonha.

Atualmente imunizam-se no Instituto Butantan cavalos com triturados de glândulas totais, glicerinadas a 40%, neutralizando 1 cc do sôro 1 d.l.m. da peçonha em cobaio.

Cremos ser possivel começar-se agora com a imunização com a peçonha pura, sêca, exatamente ponderável e que, completado o ciclo imunizatório, permitirá uma aferição rigorosa do poder neutralizante do sôro por cc em relação ao veneno puro e sêco, o que significará um novo passo avante na bôa qualidade do sôro antictenidico do Instituto Butantan.

6. DISCUSSÃO DOS RESULTADOS

Os solutos de glândulas totais feitos por Brazil e Vellard em *água de cal* eram mais ativos do que os em sôro fisiológico. Os primeiros eram fortemente opalescentes e os últimos límpidos. Concluiram, então, os pesquisadores que a opalescência seria sinal de atividade ou do grau da solução da peçonha no solvente.

Como nós tivéssemos obtido solutos opalescentes também em meio ácido e neutro, parece que a opalescência nada tem a ver com a atividade. Os solutos de peçonha pura são sempre limpidos e, ao mesmo tempo, ativíssimos, apresentando a mesma dose 50% letal, quer pela via venosa quer pela via subcutânea.



A *opalescência* dos solutos glandulares é devida à suspensão no líquido de elementos celulares, musculares, etc. macerados em gral juntamente com o veneno.

O *pH alcalino* ajuda realmente a melhor solubilização da peçonha, principalmente quando se fazem solutos muito concentrados. Mas as nossas experiências têm-nos ensinado que é melhor dissolver tanto a peçonha pura como os triturados glandulares, até 4 vêzes, centrifugando-se cada vez em lugar da filtração por papel. A primeira solubilização pode ser feita em meio levemente alcalino; as seguintes, em ambiente neutro. O soluto final deverá ser sempre na proporção de 1 mg de veneno sêco para 6 cc de soluto ou 1 glândula para 6 cc.

A glicerina levemente ácida, a frio, constitúi um bom meio de conservação das glândulas totais.

A concordância relativa das nossas titulações, tanto das glândulas totais como do veneno sêco, com as de Brazil e Vellard nos põem à vontade para render homenagem ao alto critério e rigor científico dos dois mestres.

Preparando-se os solutos glandulares, quer de glândulas recém-extraídas, quer guardadas em glicerina, a frio, em pH em tôrno de 5, com 4 "lavagens" sucessivas e centrifugações, consegue-se não sòmente solubilizar completamente a peçonha (em pH inicial 8, depois 6,5), mas êstes solutos apresentam uma atividade aproximadamente igual, e tanto mais uniforme, quanto maior tiver sido o número de glândulas.

Apesar das substâncias proteiniformes estranhas, que se obtêm nos solutos glandulares e que determinarão também a formação de anti-corpos estranhos, pode-se, imunizar com glândulas totais, desde que se tenha inicialmente um estoque de várias centenas e se proceda à titulação do sôro ou com veneno ou com glândulas que tenha a mesma atividade inicial.

A titulação dos sôros com veneno puro, sêco, será sempre preferível.

Temos visto que a dose 50% mortal por grama de camundongo, por via subcutânea é, respectivamente, 0,0007 mg de peçonha sêca e 0,0007 de glândula total. Por outro lado, temos obtido pelas picadas das aranhas no tubo de borracha valores entre 1, 2, 3, 4, 5 e num caso até 8 mg de veneno sêco. Nos meses de frio, deverá estar a média de veneno sêco por aranha em tôrno de 1 mg e, na época quente, de 2, 5-3 mg. Nunca, porém, se poderão excluir casos de picada, em que sejam injetadas as quantidades máximas acima ditas.

7 mg de veneno sêco constituem a dose 50% letal para 10 kg de camundongo ou sejam 500 camundongos em picada direta ou por via subcutânea e 1.000 camundongos em injeção venosa.

Se se quisesse admitir que o organismo humano tenha apenas a mesma sensibilidade em face dêste veneno que o do camundongo, deveríamos encarar a possibilidade de, nos meses de calor, em que as aranhas injetam muito mais peçonha do que no inverno, verificarem-se casos muito graves, principalmente em crianças de pouco pêso.

Consequentemente deveriam também 5 cc do sôro antictenídico neutralizar pelo menos 5 mg de veneno sêco ou seja 1 mg por cc.

Comparando a atividade da peçonha pura com os solutos glandulares, vemos que seriam necessárias 70 glândulas para produzirem o mesmo efeito de 7 mg de veneno sêco. Deduz-se pois que a *média de veneno puro, por aranha*, está em tôrno de 2 mg, enquanto que as *quantidades mínimas e máximas* individuais deverão naturalmente variar entre 0 e 8 mg.

Não se pode concluir daí que, se por ventura fôssem necessárias, em média, 500 glândulas para imunizar um cavalo, então seriam necessários 500 mg de veneno sêco, puro para obter o mesmo efeito imunitário, porque não se tem realmente a garantia de que as glândulas estavam cheias ou mais ou menos vazias de veneno.

Na imunização com veneno puro é mister proceder-se a ensaios, com diferentes sangrias e dosagens do poder neutralizante do sôro. Certamente poderá iniciar-se a imunização com a dose de 0,1 mg de veneno sêco, dobrando-se esta dose cada 4.º dia.

O fato de um carneiro, imunizado com 114 mg de veneno, não ter fornecido sôro muito mais concentrado do que o que recebeu 239 mg demonstra a necessidade de se fazerem diversas sangrias de contrôlo.

A velha questão de serem as peçonhas mais ativas no verão do que no inverno, também está resolvida com a obtenção do veneno sêco. Êste apresenta sempre a mesma atividade e independe das variações climáticas. O que não independe destas é a q u a n t i d a d e da peçonha, que é realmente muito maior nos meses quentes.

Tudo isto tem seu valor e deve ser tomado em consideração, pois o problema da *Phoneutria nigriventer* tende a estender-se também a outros países, como o Uruguai, onde foi confirmado por Costa (7) e MacKinnon (8); a Argentina (9) e a própria Alemanha. Neste último país capturaram-se várias dezenas de *Phoneutria nigriventer*, vindas com as remessas de bananas e espalhadas pelos armazêns dos portos de Hamburgo e Bremen (10).

7. CONCLUSAO

O melhor processo de s o l u b i l i z a r completamente a peçonha pura, sêca, ou os macerados glandulares de *Phoneutria nigriventer* consiste em dissol-

ve-los em água destilada com NaCl a 0,85%, em 4 operações seguidas. Na primeira dissolve-se na solução alcalinizada (pH em tôrno de 7 ou 8) e nas outras 3, em pH neutro. A filtração por papel é substituida por centrifugação. A proporção do veneno ou da glândula em relação ao solvente deve ser de 1 mg de veneno para 6 cc ou 1 glândula para 6 cc de solvente.

Na imunização de cavalos com peçonha pura ou com glândulas inteiras há a considerar o seguinte:

Imunizando-se com glândulas totais, obter-se-á um sôro com uma série de anticorpos estranhos, inúteis na soroterapia, provenientes de substâncias protêicas celulares, glandulares, etc.., misturadas com a peçonha (fator da "opalescência" dos solutos glandulares): na titulação dos sôros, que deveriam neutralizar pelo menos 1 mg de veneno sêco por cc, deveria substituir-se a d.l.m., feita em cobaios, pela DL_{50} % feita em grande número de camundongos; para obter-se maior rigor cientifico deveriam as titulações ser feitas com veneno puro, sêco; quando feitas com extratos glandulares, deveriam êstes ser titulados antes e depois.

Sempre será preferível, desde que se tenha bastante veneno sêco, imunizar com êste, principiando-se com 0,1 mg. que corresponderia, em média, a 0,1 glândula e que seria a dose 50% mortal, mais ou menos, para 140 gramas de camundongo.

Do ponto de vista de acidentes humanos, ficam plenamente confirmados os casos, denominados na clínica de "leves", de "média gravidade", "gravissimos" e "fatais".

Nos meses ou nos climas frios, uma *Phoneutria nigriventer* poderá inocular nas picadas diretas quantidades de peçonha que oscilam entre 0,03 mg (média mínima) até 1,84 mg (média máxima). A média mínima provocaria os "casos leves"; a média máxima, os "casos de média gravidade". A quantidade média mesmo inoculada no inverno estaria em tôrno de 0,438 a 0,7 ou 1 mg. Esta porção formaria o grosso dos casos clínicos leves ou de média gravidade , naturalmente agravados, quando a vítima fôr de pouco pêso ou de natureza mais sensível.

O quadro clinico sofre uma alteração brusca no verão ou nos climas com temperatura constantemente quente. Por êste tempo a média mínima já estaria em tôrno de 0,3 mg: a média, no sentido exato da palavra, já se elevaria para 2 ou 2,5 mg e a média poderia estar em tôrno de 3 mg de veneno puro.

A sintomatologia clinica já refletiria, por êste tempo, intoxicações de média gravidade até gravissimas (com comprometimento geral do sistema neuro-vascular profundo e periférico: suores, calefrios, perturbações visuais até cegueira, vómitos, paresias, anúria, além da dôr local sempre presente.)

Êste aspecto clinico, naturalmente, só pode ser considerado normativamente. Há os casos extremos, individuais. Individuais por parte da agressora (a aranha) que pode, num caso determinado, não injetar veneno algum ou injetar, em picadas repetidas 4-5 ou mesmo 8 miligramas; individuais também pelo lado da vítima (a pessôa), que pode ser criança na mais tenra idade, com pouco pêso, ou pessôa adulta, ou sadia ou fraca; pouco ou muito sensível, etc..

Na prática clinica, portanto, podem decorrer anos, sem que haja um só caso fatal; mas também poderiam verificar-se seguidamente diversos casos fatais, na ausência da soroterapia específica.

Fóra da profissão e, portanto, incompetentes, apontamos ao especialista apenas o que poderia acontecer, verificada a atividade assombrosa da peçonha de *Phoneutria nigriventer*, perfeitamente comparavel à de *Crotalus terrificus terrificus* do Brasil. Cabe a êle a tarefa árdua e cheia de responsabilidade de averiguar se deve ou não empregar o sôro num determinado caso.

Cremos poder dar o conselho, sem pretender entrar por seára alheia, que entre nós, durante o verão, apresentando o paciente sintomas de intoxicação geral (sistema nervoso) e tendo decorrido apenas pouco tempo desde o acidente, é de bom aviso administrar-se o sôro anti-ctenídico, especialmente, quando a vítima fôr uma criança.

Temos visto, em animais de experiência, que depois de 24 horas, a toxina iá está quase totalmente eliminada, de maneira que a soroterapia, decorrido um dia, talvêz não tenha mais indicação.

8. SUMARIO

O presente trabalho procura apresentar uma repetição das pesquisas feitas por Vital Brazil e Jean Vellard e trazer uma contribuição nova principalmente no tocante às titulações e o preparo dos extratos das glândulas totais e da peçonha pura de *Phoneutria nigriventer*.

Fica demonstrado, segundo já tinham observado Brazil e Vellard, que as concentrações dos solutos glandulares, na proporção de 1 glândula por cc de solvente e filtração por papel, não favorecem a solubilidade da peçonha, que fica sôbre o papel de filtro, principalmente quando os solutos são ácidos.

Também os solutos concentrados alcalinos deixam grande parte da peçonha sôbre o filtro.

A solubilidade da peçonha pura ou dos macerados glandulares se torna perfeita, quando se praticam 4 redissoluções dos resíduos e se substitúi a filtração por centrifugação.O ph alcalino favorece a melhor solução, mas é indispensável.

Glândulas estocadas em glicerina pura, a 3ºC, conservam tôda a sua atividade por meses.

As doses 50% mortais por grama de camundongo são:

0,0007 glândulas por via subcutânea;

0,0007 mg de veneno puro, sêco, por via subcutânea;

0,0003 mg de veneno puro, sêco, por via venosa.

Por via venosa a peçonha age ràpidamente, morrendo o animal dentro de meia hora a 1 hora e meia e começando a eliminação já depois dêste tempo, para completar-se em 12 horas, mais ou menos.

Injetando-se a peçonha por via subcutânea, principiam os sintomas de intoxicação dentro de 10 a 15 minutos; agravam-se após outros 15 minutos a 1 hora, podendo os animais falecer ainda dentro de 3 a 5 horas. A eliminação da peçonha é completa em 24 horas.

Através do processo de obtenção do veneno puro, por picada direta de aranha, mantidas vivas no laboratório, são estabelecidas as seguintes quantidades em mg que as aranhas podem injetar em picada:

máximas individuais: — 3, 4, 5, 6 até 8 mg; (no verão); 1, 8 mg no inverno;

médias: — 0, 4-0, 7-1 mg no inverno e 2-2, 5 mg no verão ou climas quentes;

mínimas: — 0, 03 mg no inverno e 0,3 no verão.

Nos processos imunitários aponta-se a conveniência de os sôros serem titulados com veneno puro, devendo preferir-se como animal de contrôlo o camundongo, substituindo-se as mínimas pelas doses 50% letais; indica-se ser ideal imunizar-se com o próprio veneno puro. O poder neutralizante do sôro anti-ctenídico deveria ser expressado em mg de veneno sêco, puro e o mesmo deveria neutralizar pelo menos 1 mg de peçonha por cm^3.

Demonstra-se que acidentes humanos fatais, devidos a picadas por *Phoneutria nigriventer*, são realmente muito raros, mas que podem verificar-se, devendo o clínico examinar a sintomatologia geral do paciente, seu pêso, o tempo decorrido entre o acidente e o tratamento, etc.., para capacitar-se se deve ou não empregar o sôro específico.

Demonstra-se que a "opalescência" dos solutos glandulares nada tem a ver com a atividade dos mesmos, isto é, que esta é devida à suspensão no soluto de substâncias celulares, etc..

Confirmam-se as pesquisas realizadas por V. Brazil e J. Vellard no tocante a solutos concentrados ácidos, alcalinos e em relação à atividade do veneno puro.

Mem. Inst. Butantan,
25(2):1-21. 1953.

Agradecimento:

Ao sr. José Navas apresentamos nossos agradecimentos pelas coletas de veneno sêco das aranhas vivas.

Somos gratos à farmacêutica, da. Nicolina Pucca, pelos prestimosos serviços nas titulações dos solutos veneníferos.

Agradecemos igualmente às srtas. Laurinda Pucci e Luzia Seabra a colaboração prestada.

SUMMARY

Based on the studies of Vital Brazil and Jean Vellard on the action of the venom of the spider *Phoneutria nigriventer*, a new technic is described for preparing an extract by using dried pure venom and poison glands.

In the light of the conclusions of the above mentioned authors, the more concentrated solutions, in acid as well as in neutral and alcaline media — in the proportion of 1 gland to every cc followed by filtration through a filter paper-are not radiable, as a great part of the venom is retained on the filter.

To obtain complete solution of pure venom and of poison glands, 4 consecutive solutions are required, each followed by centrifugation.

The final extract should be in the proportion of 1 mg of dried venom or 1 poison gland, to 6 cc of liquid. It is convenient to make the first solution at an alcaline pH, although the other 3 solutions may be neutral to litmus.

Poison glands retain their full activity, when stored during months in pure glycerina, at 3°C.

The mean lethal dosis per gram of mouse is as follows:

0,0007 gland .... subcutaneously,
0,0007 milligram of dried venom .... subcutaneously,
0,0003 milligram of dried venom .... intravenously.

When injected intravenously the poison acts rapidly. Death occurs in mice within half to one and a half hours. After this time the elimination sets in, becoming more or less complete in 12 hours.

On subcutaneus injections, the first symptoms of intoxication are seen within 10 to 15 minuts, increasing up to 30 to 60 minutes with the animals succumbing usually 2 to 5 hours afterwards. The elimination of the venom in the survivors is complete in 24 hours.

200 adults and 600 young specimens of *Phoneutria nigriventer* are kept alive in the author's laboratory. Their venom is extracted every 2 weeks in summer and monthly in winter.

The quantities of dried venom, from a single adult spider, are as follows:

a) In winter-time: 0,2 — 1,8 mg .... maximum;
0,4 — 1,0 mg .... mean;
0,03 — 0,1 mg .... minimum.

b) In summer time: 3,0 to 5,0 and even 8,0 mg .... maximum;
2,0 — 2,5 mg .... mean;
0,3 — 1,0 mg .... minimum.

The specific *anti-ctenidic serum* should be standardized with pure venom rather than with gland-extracts, its neutralizing power being expressed in mg.

An efficient anti-ctenidic serum *should neutralize 1 mg of dried venom per cc* or 70 lethal doses (LD_{50}), on mice, subcutaneously.

Fatal accidents in human beings seem to occur only occasionally, even in the São Paulo region, on the Brazilian East coast and in the other South-and Central American countries, being still rarer in winter or cold climates. However, death may be possible (9 fatal cases having been observed).

Physicians are, therefore, advised to treat every case individually according to the age and weight of the victims, their susceptibility, symptoms of intoxication and principally the time which has elapsed since the accident, in order to judge if serum therapy is warranted.

ZUSAMMENFASSUNG

In vorliegender Arbeit werden die Erforschungen und Giftbestimmungen, die Vital Brazil und Jean Vellard, an der Spinne *Phoneutria nigriventer* vorgenommen hatten, nachgeprüft. Andererseits werden wesentliche Verbesserungen dargelegt, die es gestatten, sowohl das trockene Reingift wie auch das in den Giftdrüsen enthaltene Gift, exakter zu bestimmen.

Es wird gezeigt, wie schon Brazil und Vellard gefunden hatten, dass sowohl konzentrierte Drüsengiftlösungen wie auch Reingiftlösungen (1 mg Reingift oder 1 Giftdrüse zu nur 1 ccm Lösungsflüssigkeit), mit nachfolgendem Abfiltern, das Gift nicht nur nicht ganz zur Lösung bringen, sondern dass auch sehr viel Gift auf dem Filterpapier bleibt.

Dies ist besonders der Fall, wenn das Lösungsmittel sauer reagiert. In alkalischem Medium ist die Lösung etwas besser, aber auch bei weitem nicht vollständig.

Um eine vollständige Lösung sowohl der Reingifte als auch der mazerierten Giftdrüsen zu erhalten, empfiehlt es sich, als Lösungsmittel physiologische Kochsalzlösung zu verwenden. Die Hauptsache jedoch ist, dass man das Gift mindestens viermal zur Lösung bringt und immer hernach abzentrifugiert. Das erst Mal löst man am besten bei pH Werten um 8 herum; die weiteren

Rückstände dann in neutraler Lösung. Das Endverhältnis von Reingift oder Giftdrüsen zur Lösungsmenge sollte 1:6 sein, also 1 mg oder 1 Drüse auf 6 ccm Lösungsmittel.

In schwach sauerem Glycerin aufbewahrte Giftdrüsen verlieren bei einer monatelangen Konservierung bei 3.° C nicht an Wirksamkeit.

Die 50 %ig tödlichen Dosen dieses Giftes liegen pro Gramm Maus:

bei 0,0007 Giftdrüse, subkutan;
bei 0,0007 mg Reingift, subkutan;
bei 0,0003 mg Reingift, intravenös.

Nach intravenöser Einverleibung kommt das Gift sehr rasch zur Wirksamkeit und die Mäuse sterben schon nach einigen Minuten bis spätestens 90 Minuten. Nach dieser Zeit setzt schon die Giftausscheidung ein und diese ist nach ungefähr 12 Stunden komplet.

Bei subkutaner Einspritzung findet man die ersten Intoxikationsanzeichen schon nach 10 bis 15 Minuten. Sie werden immer schwerer, allgemeiner und bösartiger inerhalb der nächsten 15 Minuten bis zu 1 Stunde. Nach 3 bis 5 Stunden können immer noch einige Tiere sterben; dann beginnt die Ausscheidung, die nach 24 Stunden auch beendet ist.

Diese giftigsten Spinnen Brasiliens werden in unserem Laboratorium zu Hunderten lebendig gehalten. Jede Woche oder jede zweite Woche wird ihnen das Gift abgenommen. Dabei bedienen wir uns eines dünnen, elastischen Gummischlauches, dessen Enden an zwei langen Glaspipetten befestigt sind. Da *Phoneutria nigriventer* sehr angriffslustig ist, beisst sie einmal oder auch mehrere Male in den Schlauch, wobei ihr Gift im Innern desselben deponiert wird und dann bequem auf ein Glas gebracht werden kann. Es wird in Vahuum getrocknet und kann so als weisslicher Staub monatelang im Vakuum über Kalziumchlorit aufbewahrt werden.

Nach dieser Methode haben wir folgende mengenmässige Werte pro Spinne erhalten:

grösste individuelle Mengen: — 3: 4; 5; 6 und sogar 8 mg im Sommer; 1, 8 mg im Winter;
mittlere Menge: — 0,4 bis 0,7-1 mg im Winter und 2-2, 5 mg im Sommer;
Mindestmenge: — 0,03 mg im Winter und 0,3 mg im Sommer.

Die gleichen Dosierungsziffern im Tierversuch beweisen, dass das Trockengift sowohl im Winter wie im Sommer die gleiche Wirksamkeit hat. Damit kommen wir auch auf den Grund, warum ältere Forscher immer gemeint haben, in den heissen Jahreszeiten seien die Spinnen giftiger als in den kalten. Sie sind immer gleichgiftig, nur haben sie in den heissen Sommermonaten mehr Gift als in den kalten Jahreszeiten.

Bei der Titulierung der durch Pferdeblut gewonnenen spezifischen Seren ist es zu empfehlen, dass man zur Bestimmung der Serumswerte Trockengift verwendet, statt des mehr oder weniger unkontrollierbaren Giftdrüsenextraktes. Am besten ist es nutürlich, wenn genügend Reingift vorhanden ist, dass man die Pferde mit Reingift immunisieren kann.

Reingiftlösungen sind immer wasserklar. Die "Opaleszenz" der durch Drüsenzerreibung erhaltenen Lösungen steht mit der Wirksamkeit in keiner Beziehung, wie Brazil und Vellard angenommen hatten, sondern ist vielmehr der Ausdruck, dass neben dem Gifte auch Zell-und Muskelsubstanzen mit in Suspension oder Lösung gingen. Da diese ebenfalls eiweissartiger Natur sind, dürften die damit gewonnenen Seren viele unnütze Antikörper enthalten, die für die Therapie unerwünscht sind.

Die Titulierung der Seren sollte in Bestimmungen der 50 % tödlichen Dose an Mäusen geschehen, statt der bis jetzt angewandten mindest tödlichen Dose an Meerschweinchen, weil die Mäuse billiger sind und vor allem in grösseren Mengen zur Verfügung stehen und weil man bei diesen Tieren relativ weniger des so wertvollen Trockengiftes verbraucht.

Die Neutralisierungskraft des spezifischen Serums sollte in mg ausgedrückt werden und ein gutes Serum sollte wenigstens pro ccm 1 mg Trockengift neutralisieren.

Wenn man unsere Erfahrungen über die beim Biss in den Gummieschlauch zu verschiedenen Jahreszeiten abgeschiedenen Giftmengen auf die menschliche Therapie überträgt, so kommt man zu dem Schlusse, dass menschliche Todesfälle durch den Biss von *Phoneutria nigriventer* zu ganz grossen Seltenheiten gehören dürften, dass sie aber immerhin im Bereiche des Möglichen stehen. Bisher sind 8-9 von Ärzten beglaubigte Todesfälle, auch erwachsener Menschen im Staat São Paulo vorgekommen.

Da, wie wir gesehen haben, die eingespritzten Giftmengen grossen Schwankungen unterworfen sind, muss es immer dem behandelnden Arzte anheimgestellt bleiben, festzustellen, ob Lebensgefahr vorhanden ist und ob es nötig ist, Serum zu spritzen. Ist das Allgemeinbefinden des Patienten gestört, machen sich Sehstörungen, Pulsbeschleunigung, Schüttelfrost und Übelkeit, etc.., bemerkbar und ist der Patient ein Kind mit wenig Gewicht und ist erst eine sehr kurze Zeit zwischen dem Bisse und der Behandlung verflossen, so ist die spezifische Serumbehandlung unbedingt angezeigt.

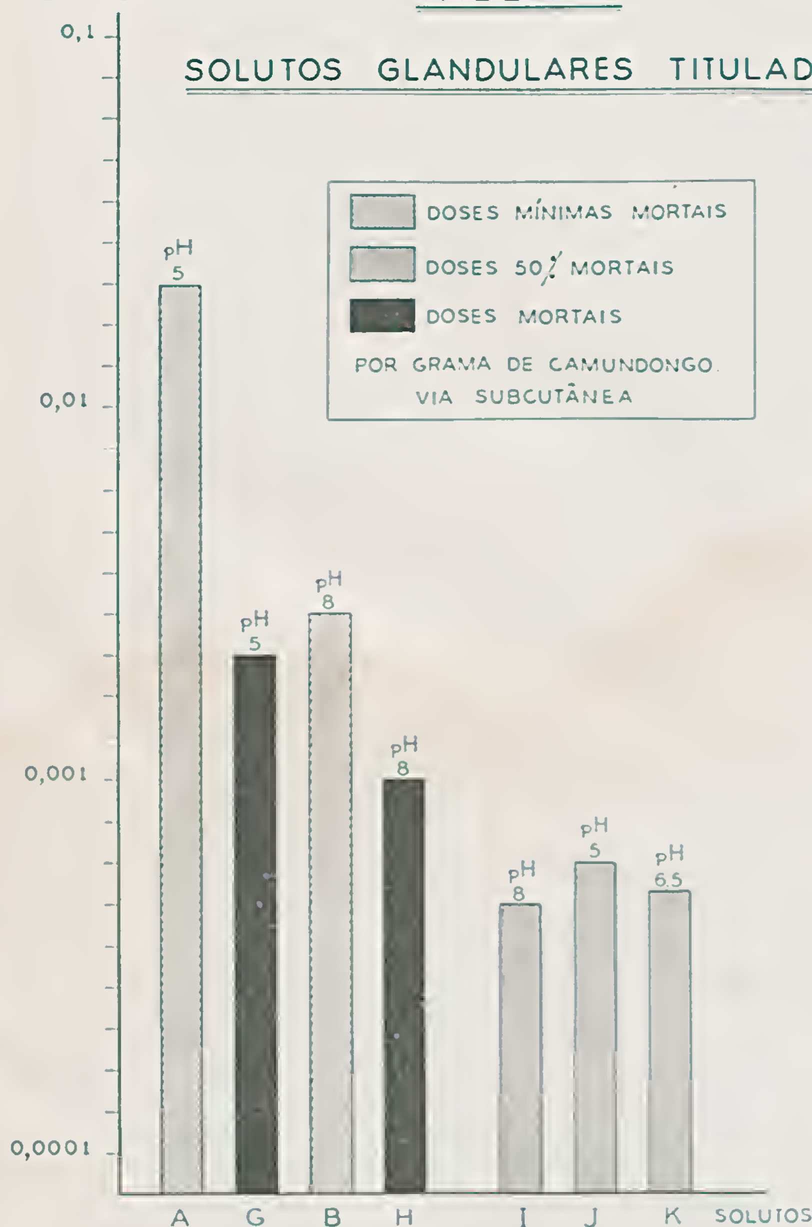
Zum Schlusse zeigt diese Arbeit noch auf die Möglichkeit hin, dass die giftigste Spinne Brasiliens, *Phoneutria nigriventer*, auch in Uruguay, Argentinien vorkommt, ja selbst schon bis nach Hamburg und Bremen mit den Bananenexporten Lateinamerikas verschleppt worden ist, dass es sich also empfiehlt,

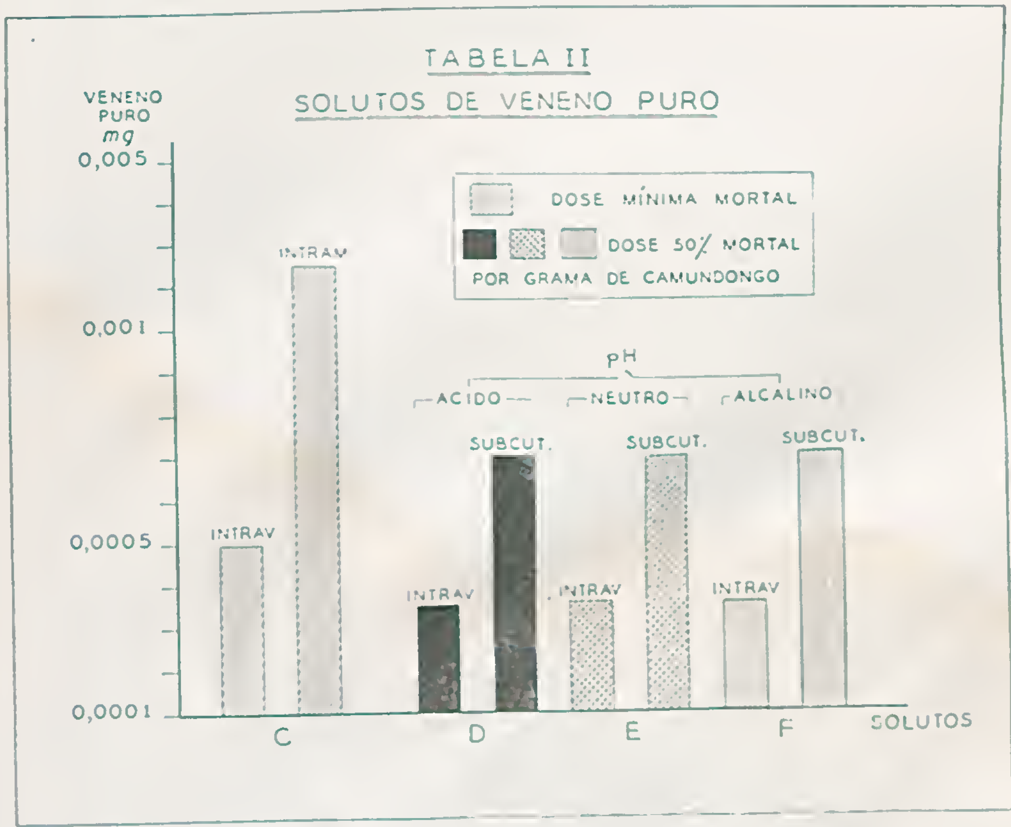
wenn die betreffenden Länder wenigstens ein kleines Serumdepot, das aus Butantan zu beziehen wäre, halten würden.

LITERATURA:

1. *Brazil, V. & Vellard, J.* — Mem. Inst. Butantan **2**: 5-78, 1925.
2. *Guimarães, J. L.* — Gazeta Clin., São Paulo, N.° 1, 1916.
3. *Vellard, J.* — Le Venin des Araignées. Masson, Paris, 1936.
4. *Fonseca, Fl.* — Animais Peçonhentos. Inst. Butantan, S. Paulo: 262-275, 1949.
5. *Brazil, V. & Vellard, J.* — Mem. Inst. Butantan, **3**: 243-299, 1926.
6. *Reed, L. J. & Muench, H.* — Am. J. Hyg. **27**: 493-497, 1938.
7. *Costa, R. S.* — Anal. Inst. Hig., Montevideo, **3**: 57-66, 1949.
8. *Mackinnon, J. E., & Witkind, J.* — Aracnidismo necrótico. Anal. Faculd. Med. Montevideo, **38**: 75-100, 1953.
9. *Ibarra Grasso, A.* — Arañas e Araneismo — La Semana Medica — Tomo Cincoentenário, (2): 763-793, 1944.
10. *Schmidt, G.* — Über die Bedeutung der mit Schiffsladungen in Deutschland eingeschleppten Spinnentiere — Anzeiger für Schädlingsk, **26**: 97-105, 1953.




TABELA I
SOLUTOS GLANDULARES TITULADOS
GLÂNDULAS
0,1
0,01
0,001
0,0001
DOSES MÍNIMAS MORTAIS
DOSES 50% MORTAIS
DOSES MORTAIS
POR GRAMA DE CAMUNDONGO
VIA SUBCUTÂNEA
pH 5
pH 5
pH 8
pH 8
pH 8
pH 5
pH 6.5
A
G
B
H
I
J
K
SOLUTOS


TABELA II
SOLUTOS DE VENENO PURO
VENENO PURO mg
0,005
0,001
0,0005
0,0001
DOSE MÍNIMA MORTAL
DOSE 50% MORTAL
POR GRAMA DE CAMUNDONGO
pH
ACIDO
NEUTRO
ALCALINO
INTRAV
SUBCUT.
C
D
E
F
SOLUTOS


cm 1 2 3 4 5 6
SciELO
10 11 12 13 14 15

Mem. Inst. Butantan,
25(2):23-27. 1953.

ESQUISTOSSOMOSE EXPERIMENTAL

4. *Nasua narica* e *Didelphis paraguayensis*, animais sensíveis à infestação experimental pelo *Schistosoma mansoni*.

POR JOSÉ M. RUIZ

(*Secção de Parasitologia. Instituto Butantan*)

A infestação experimental dos animais silvestres da nossa fauna não tem sido convenientemente estudada, o que pode ser julgado como uma deficiência no que diz respeito aos nossos conhecimentos sôbre equistossomose experimental. A importância dos animais domésticos e selvagens como possíveis vectores potenciais da esquistossomose *mansoni* é fato que deve ser comprovado pela experimentação.

Este assunto tem sido alvo de pesquisas muito recentes entre nós e sôbre o mesmo já chamámos a atenção diversas vezes. Em notas anteriores mostrámos a sensibilidade à infestação experimental de diversas espécies animais comuns da nossa fauna como o *mão-pelada*, a *paca* e o *furão*.

Tavares da Silva (1945) dá notícia sôbre a infestação do *preá*, *Cavia aperea*; César Pinto e Firmato de Almeida, no mesmo ano, conseguiram infestar o *tatú pelúdo*, *Euphractus sexcinctus*.

Experiências com o *veado mateiro*, *Mazama americana*, e a *capivara*, *Hydrochoerus hydrochoerus* levadas a efeito por êsses autores, e com o *cachorro de mato*, *Cerdocyon thous azarae* feitas por nós (inédito), não conseguiram demonstrar a suceptibilidade à infestação dêsses animais.

Em trabalho recente, Donald L. Price (1953), trabalhando com material da América Central, relata a infestação experimental da *cotia*, *Dasyprocta aguti*, que eliminou ovos pelas fezes 65 a 72 dias depois da infestação.

Em comunicação pessoal que nos fêz o prof. Lauro Travassos, do Instituto Oswaldo Cruz, já no decurso de nossas atuais verificações, soubemos que o *gambá*, *Didelphis aurita*, já fôra por ele assinalado como hospedeiro natural e experimental do *Schistosoma mansoni*, na Bahia. As observações do Prof. Travassos têm, portanto, prioridade sobre as relatadas na presente nota, com referência aos didelfídeos.

Entregue para publicação em 23.XI.53.

A infestação natural de roedores silvestres pelo *S. mansoni* já foi assinalada no Egipto (Kuntz, 1952) e no Congo Belga (Schwetz, 1953). No Brasil estão sendo feitas atualmente pesquisas nesse sentido e já tivemos conhecimento do encontro de murídeos da região nordestina, infestados em condições naturais (Simões Barbosa, 1953, Pimentel de Amorin, 1953, Pimentel de Amorin & col., 1953). Os trabalhos dêsses autores não chegaram a nossas mãos até a presente data.

Na presente nota relatamos a infestação experimental obtida em dois representantes comuníssimos da nossa fauna: o coatí, *Nasua narica*, e o gambá, *Didelphis paraguayensis*.

MATERIAL

"Coati". *Nasua narica*. Familia *Procyonidae*. Um exemplar adulto recebido de Porto Nacional, Est. de Goiás, em 8-12-1952. Número de registro 6.330.

"Gambá". *Didelphis paraguayensis*. Familia *Didelphiidae*. Cinco exemplares procedentes das seguintes localidades: Uma fêmea adulta, sem número de registro (ref. 102), procedente de Santo Anastácio, Est. de São Paulo. Um exemplar macho, um tanto jovem, n.º 6.408, procedente de Guaranésia, Est. de Minas Gerais (inoculação, 34). Um exemplar fêmeo, adulto, n.º 6.366, procedente de Brumado, Est. de S. Paulo (inoculação, 35). Dois exemplares adultos, fêmea n.º 6.394 (inoculação, 36), macho n.º 6.404 (inoculação 37), procedentes de João Eugênio, Est. de Paraná.

MÉTODO

Inoculação transcutânea, colocando-se o material infestante diretamente sôbre a superfície ventral prèviamente raspada à máquina e lavada com água morna. Cercárias obtidas por dissecção de moluscos infestados em condições naturais.

Coatí (inoculação 23, de 17-4-1953), inoculado com parte do material procedente de dois molúscos infestados do lote n.º 27, procedente de Jaboticatubas, Est. de Minas Gerais. Exposição à luz artificial durante cêrca de 40 minutos.

Gambá (inoculação 11, de 2-5-52). Inoculado com cêrca de 350 cercárias oriundas de dois molúscos de Neves, Est. de Minas Gerais. Exposição à luz artificial durante cêrca de uma hora.

Gambás (inoculações 34, 35, 36, 37 de 19-5-53). Inoculados com material de cinco moluscos do lote n.º 32, procedentes de Caratinga, Est. de Minas

Gerais. Número de cercárias elevado, não determinado. Exposição durante 15 a 20 minutos ao sol, mais 5 a 10 minutos à sombra.

Exames de fezes pelo processo de sedimentação, H. P. J., examinando-se, no mínimo, duas lâminas com lamínula 18 x 24 mm.

Coleta de vermes adultos exclusivamente pelo processo de perfusão do sistema porta. Todos os orgãos foram fixados, a seguir, em formol fisiológico a 10%.

RESULTADO

Inoculação, 23 — Nasua narica. 17-4-53.

Exames de fezes em 16, 20, 26 e 30 de maio, negativos para ovos de *S. mansoni*. Exames de fezes em 10, 13, 15 de junho e 6 de julho, positivos para ovos de *S. mansoni*. A eliminação de ovos deu-se, portanto, após 54 dias da data da infestação. A pesquisa de ovos resultou sempre positiva nos exames feitos após aquele prazo.

Em julho, o coati evadiu-se do cativeiro, tendo desaparecido, razão por que não foram feitos exames subseqüentes.

Inoculação, 11 — Didelphis paraguayensis. (ref. 102). 2-5-52.

Vários exames de fezes negativos para ovos de *S. mansoni*.

Necropsia em 1-8-52, ref. 143. Ausência de lesões macroscópicas em todos os orgãos. Ausência de vermes adultos. Ausência de ovos na mucosa do intestino grosso e réto.

Inoculação, 34 — Didelphis paraguayensis. 19-5-53.

Exames de fezes em 20, 26 de maio, 16, 17 e 30 de junho e 3 de julho, negativos para ovos de *S. mansoni*.

Necropsia em 3-10-53, ref. 476. Lesões esbranquiçadas, punctiformes, no fígado. Vermes adultos, vivos, visíveis nos plexos do intestino grosso. Coletados 14 exemplares machos de *S. mansoni*. Ausência de fêmeas.

Inoculação, 35 — Didelphis paraguayensis. 19-5-53.

Exames de fezes em 20 e 26 de maio, 16, 17 e 30 de junho, 3 e 4 de julho, 27 de agosto, 4 e 18 de setembro, negativos para ovos de *S. mansoni*. Necropsia em 2-10-53, ref. 475. Lesões esbranquiçadas, punctiformes, freqüentes, no fígado, bem como nos pulmões onde aparecem mais extensas. Vermes vivos visíveis nos plexos venosos do reto. Coletados 4 exemplares machos de *S. mansoni*. Ausência de fêmeas.

Inoculação, 36 — Didelphis paraguayensis. 19-5-53.

Exames de fezes em 20 e 26 de maio, 16 de junho, 4 de julho, 27 de agosto e 4 de setembro, negativos para ovos de *S. mansoni*. Exame de fezes em 30-9-53, data da necropsia, positivo, tendo sido encontrado um ovo morto

em duas lâminas examinadas. Necropsia em 30-9-53. ref. 474. Fígado e pulmões com lesões macroscópicas freqüentes, como no caso anterior. Coletados 16 exemplares machos e duas fêmeas de *S. mansoni.*

Inoculação. 37 — Didelphis paraguayensis. 19-5-53.

Exames de fezes em 20 de maio, 17 de junho, 3, e 4 de julho, 27 de agosto, 4 e 18 de setembro e 6 de outubro, negativos para ovos de *S. mansoni.* Animal em observação até a presente data (18-11-53).

RESUMO

Foram submetidos à infestação experimental um coati, *Nasua narica,* e 5 gambás, *Didelphis paraguayensis.*

O coati eliminou ovos viáveis pelas fezes a partir do 54.º dia da infestação; todos os exames de fezes, em número de quatro, feitos a partir dessa data foram positivos para ovos de *S. mansoni.*

Dos gambás inoculados o primeiro (inoculação 11) não apresentou infestação aparente, baseada em exames de fezes, da mucosa do intestino grosso e do reto, bem como na perfusão total do sistêma porta.

Os gambás das inoculações 34 e 35 apresentaram uma infestação pouco intensa, apesar de inoculados com número grande de cercárias (número não determinado), e constituida exclusivamente por machos.

O da inoculação 36 apresentou uma infestação mista, constituida de 16 machos e 2 fêmeas, mas o encontro de ovos nas fézes verificou-se sòmente na data da necropsia, fato que talvez deva ser atribuido à fraca infestação.

CONCLUSÃO

1 — O coati, *Nasua narica* mostrou-se um bom hospedeiro experimental do *Schistosoma mansoni,* conclusão baseada na eliminação regular de ovos viáveis pelas fezes.

2 — O gambá, *Didelphis paraguayensis* não pode ser considerado um bom hospedeiro experimental, nas condições em que trabalhámos.

SUMMARY

One "coati", *Nasua narica,* and five "gambás" (opossum), *Didelphis paraguayensis,* were submitted to experimental infection with *Schistosoma mansoni.*

Egg elimination in "coati" was observed in stools on the 54 th. day after

infestation. Examinations of stool after this period, in number of four, showed typical eggs of *S. mansoni*.

The first "gambá" did not show any apparent infection; examination of stools, mucosae of the large intestin and rectum and perfusion of the portal system were negative.

Two "gambás" presented a weak infection with only males *S. mansoni*.

The fourth "gambá" presented a double sex infection (16 males and 2 females adult worms) but only in the necropsy was seen one egg in stool (4 months and 11 days after exposure to infection.).

The fifth "gambá" has not yet been submitted to necropsy. Examinations of stools for *S. mansoni's* eggs were negative to this date.

BIBLIOGRAFIA

1. *Kuntz, R. E.* — Natural Infection of an Egyptian Gerbil with *Schistosoma mansoni*. *Proc. Helm. Soc. Washington*, **19** (2): 123 1952.
2. *Pimentel de Amorin, J.* — Infestação experimental e natural de murideos pelo *Schistosoma mansoni*. Nota prévia. *Rev. Brasil. malariologia*, **5** (3): 219. 1953
3. *Pimentel Barbosa, J., Rosa, D. & Lucena, D. T.* — Ratos silvestres reservatórios do *Schistosoma mansoni* no nordeste do Brasil. *XI Congresso Brasileiro de Higiene*. 193.
4. *Pinto, C. & Almeida, A. F.* — Schistosomiasis mansoni no Brasil. *Monogr. Inst. Oswaldo Cruz, n.º 5*, 287 pp., 1948.
5. *Ruiz, J. M.* — Schistosomose Experimental. I — Receptividade de *Procyon cancrivorus* à infestação pelo *Schistosoma mansoni*. *Mem. Inst. Butantan*, **24** (2): 111. 1952.
6. *Ruiz, J. M.* — Schistosomose Experimental. 3 — *Cuniculus pacca pacca* e *Grison furax*, novos animais receptiveis à infestação pelo *Schistosoma mansoni*. *Mem. Inst. Butantan*, **25**. 1953.
7. *Schwetz, J.* — On a new Schistosome of wild rodents found in the Belgian Congo, *Schistosoma mansoni* var. *rodentorum* var. nov. *Ann. Trop. Med. Parasitol.*, **47** (2): 183. 1953.
8. *Simões Barbosa, F.* — Infestação natural de *Rattus Rattus frugivorus* pelo *Schistosoma mansoni*. *Publ. Avulsas, Inst. Aggeu Magalhães*, 2 (4). 1953.
9. *Price, D. L.* — Laboratory Infection of the Agouti, *Dasyprocta aguti*, with *Schistosomo mansoni*. *Amer. J. Trop. Med. Hyg.*, 2 (5): 1926. 1953.




cm 1 2 3 4 5 6
SciELO
10 11 12 13 14 15

PROCESSO RÁPIDO DE PERFUSÃO DO SISTEMA PORTA DE MAMÍFEROS PARA COLETA DE ESQUISTOSSOMATÍDEOS, APLICAVEL AOS TRABALHOS DE CAMPO.

POR JOSÉ M. RUIZ

(Secção de Parasitologia, Instituto Butantan)

Em 1952 descrevemos uma técnica prática de perfusão para coleta de *Schistosoma mansoni* em animais de laboratório.

Pela técnica então descrita, o tempo de trabalho para a perfusão de um pequeno animal, desde a abertura até a separação dos helmintos e respectiva contagem, é de cêrca de uma hora.

Como a economia de tempo é de grande importância, principalmente nos trabalhos de grande amplitude, procurámos melhorar ou simplificar o processo de perfusão que terá forçosamente uso generalizado nas pesquisas sôbre esquistossomose experimental.

Nos inquéritos epidemiológicos, tendo-se em vista a indagação sôbre possíveis hospedeiros definitivos entre os animais silvestres ou domésticos, seria igualmente interessante haver uma técnica de perfusão simples e rápida e que constasse de aparelhagem de fácil transporte para trabalhos no próprio campo.

Tais desideratos parece terem sido conseguidos com a técnica que passamos a descrever e que temos utilizado com resultados muito bons.

Técnica:

1 — Sacrificar o animal com éter ou clorofórmio.

2 — Expôr os orgãos torácicos e abdominais mediante ampla incisão pelos lados do ventre e tórax, cortando inclusive as costelas ao longo das porções cartilaginosas.

3 — Ligadura dupla da veia cava inferior acima do diafrágma, cortando-a entre as ligaduras.

4 — Ligadura simples do esôfago, imediatamente acima do diafrágma, cortando-o acima dessa ligadura.

Entregue para publicação em 23.XI.53.



5 — Flexionar para a face dorsal a região torácica do animal a fim de expôr melhor a artéria aorta. A própria borda de uma placa de Petri (15 cm de diâmetro) serve para tal fim, colocando-se o animal com o tórax ao nível da referida borda. Em se tratando de animais maiores, trabalha-se sobre uma bandeja de tamanho variável e o tórax é flexionado, colocando-se um calço sob a região torácica. A placa de Petri ou a bandeja devem ficar ligeiramente inclinadas para o lado do operador.

6 — Incisar a aorta no mínimo um cm. acima do diafrágma: introduzir a cânula e amarrar.

7 — Cortar a veia porta.

8 — Passados cêrca de 5 minutos, o fígado ja estará suficientemente perfundido. Pinçar a veia cava entre o rim direito e o fígado. Por esta operação a corrente liquida passará com maior pressão pelos plexos mesentéricos, já perfundidos desde o início. Continuar a perfusão durante 2 ou 3 minutos mais, a fim de garantir uma bôa lavagem dos plexos.

9 — Lavar o animal num frasco de bôa capacidade, quasi repleto de água, ou sob uma torneira, recolhendo o liquido num recipiente.

10 — Separar os vermes por decantação.

Liquido perfusor. Preferivelmente usar um liquido citrado, por exemplo, com a seguinte fórmula: Citrato de sódio 0,30%. Cloreto de sódio 0,70% em água distilada ou mesmo água comum.

Aparelho. O aparelho que idealizámos, que serve tanto para trabalhos de laboratório como de campo, é o que consta na *Figura 1.* Um frasco de Kitasato com capacidade para 500 ou 1.000 ml (F), ao bico do qual se adapta uma pêra de borracha do tipo utilizado para enchimento de ampôlas nos laboratórios de hipodermia (A). A rolha de borracha adaptada ao bocal (em nossa figura trata-se de uma peça inteiriça de vidro) apresenta duas perfurações por onde passam dois tubos de vidro em L invertido. Um dos tubos (B) apenas ultrapassa o nível inferior da rolha; superiormente tem adaptado um pequeno tubo de borracha que é preso por uma pinça de Mohr. Este tubo serve para dar escapamento ao ar, quando se deseja suspender o jacto de liquido. O outro tubo (C) vai até o fundo do frasco, podendo ter adaptado na extremidade um pequeno tubo de borracha. Na parte superior dêsse tubo liga-se o fino tubo de borracha (D), ao qual por sua vez se adapta a cânula (E). Esta poderá ser de vidro ou constar de uma simples agulha de hipodermia sem bisel.

Dados técnicos. Antes de introduzir a cânula na aorta, bombar a pêra até produzir o jacto de liquido, afim de evitar a introdução de ar nos vasos sanguíneos, o que dificultaria a perfusão; prende-se com o polegar e o indicador o tubo de borracha logo acima da base da cânula, interrompendo o jacto de

liquido, no momento da introdução dela na aorta. Uma vês introduzida a cânula, solta-se o tubo e amarra-se a artéria.

Para interromper a corrente de liquido a qualquer momento, abre-se o tubo de escapamento de ar (B).

No fim da perfusão, faz-se escapar o ar do aparelho e suspende-se a cânula para que o liquido contido nos tubos (D e C), volte ao frasco (F).

Havendo necessidade de perfundir o fígado e o restante sistema porta em separado, bastará ligar a veia porta do lado do mesentério, perfundir o fígado, lavar e recolher os vermes e depois prosseguir a operação, ligando a veia cava abaixo do fígado e soltando a ligadura da veia porta.

RESUMO

É proposta uma nova técnica rápida de perfusão do sistema porta de mamíferos para a coleta de equistossomatídeos.

É descrito um novo aparelho, de fácil transporte, para tal fim.

A técnica descrita possibilita a aplicação do método de perfusão em trabalhos de campo.

SUMMARY

A new and rapid perfusion technique for revovery of schistosomatids from the portal system of mammals is described.

A new apparatus of easy transport for this purpose is also described.

The application of perfusion method by this technique is suitable for laboratory and field work.

BIBLIOGRAFIA

1. *Brandt, J. L. & Finch, E. P.* — Method for removal adult *S. mansoni* from rabbits. *Proc. Soc. Exper. Biol. and Med.*, **61**: 22-23. 1946.
2. *Pan, C. & Hunter III, G. W.* — A modified perfusion technique for the recovery of schistosomes. *J. Lab. Clin. Med.*, **37**: 815-816. 1951.
3. *Ruiz, J. M.* — Técnica de perfusão para a coleta de *Schistosoma mansoni* em animais de laboratório. *Mem. Inst. Butantan*, **24**: 101-110. 1952.
4. *Yolles, T. K., Moore, D. V., De Giusti, D. L., Ripsom, C. A. & Meleney, H. E.* — A technique for the perfusion of animals for the recovery of schistosomes. *J. Parasitol.*, **33**: 419-426. 1947.
5. *Yolles, T. K., Moore, D. V. & Meleney, H. E.*, — Post-cercarial development of *Schistosoma mansoni* in the rabbit and hamster after intraperitonial and percutaneous infection. *J. Parasitol.*, **35**: 276-294. 1949.


cm 1 2 3 4 5 6 SciELO 10 11 12 13 14 15

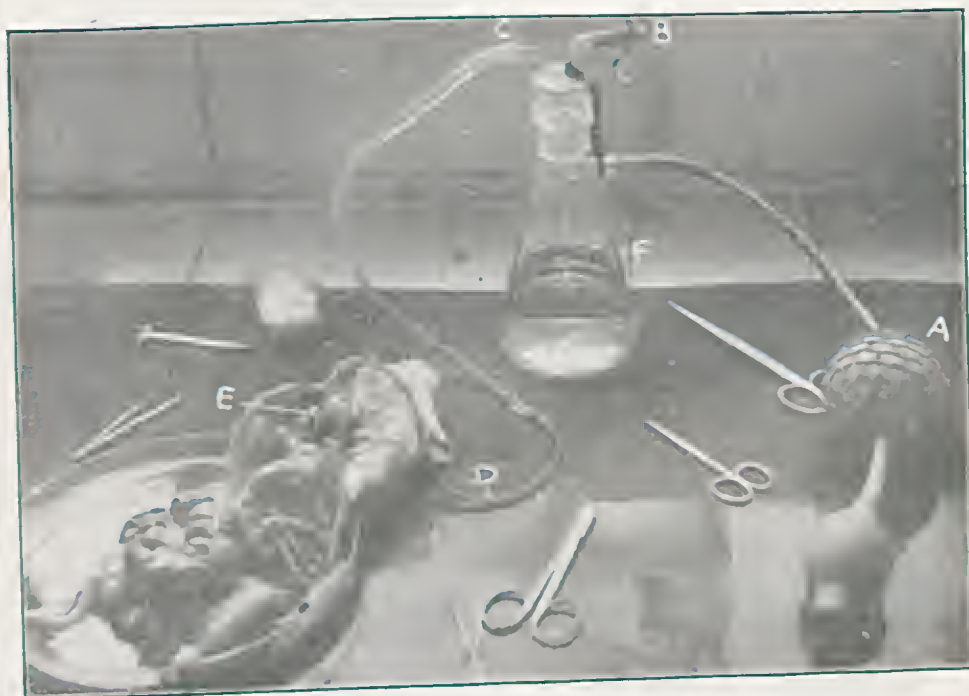


Fig 1 — Perfusão da cobaia pelo processo descrito.


cm 1 2 3 4 5 6
SciELO
10 11 12 13 14 15

IDENTIFICAÇÃO CROMATOGRÁFICA DE ADRENALINA E ARTERENOL NA ADRENAL DE OFÍDIOS (1).

CATHARINA M. W. BRANDI (2), E. CABIB (3) & J. L. PRADO

(Laboratórios de Farmacologia e Bioquímica da Escola Paulista de Medicina, São Paulo, Brasil e Instituto de Investigaciones Bioquímicas, Fundación Campomar, Buenos Aires, Argentina.)

A adrenalina e o arterenol já foram identificados em extratos de adrenal de várias espécies (cf. von Euler, 1950). Valle e Porto (1945) determinaram o conteúdo de aminas simpatomiméticas nas adrenais de *Bothrops jararaca*, mas como o método biológico empregado não permitia esclarecer a natureza das substâncias estudadas, pensamos em identificá-las por cromatografia.

MATERIAL E MÉTODOS

Preparação dos extratos. Cinco a dez serpentes adultas (*Philodryas* sp.) (4) foram anestesiadas com pentobarbital e suas adrenais (peso fresco médio, 27 mg) removidas, separadas da melhor maneira possível de tecidos aderentes e os extratos para cromatografia preparados segundo Cabib (1951).

Cromatografia. Utilizamos papel de filtro Whatman n.º 1, lavado segundo as recomendações de Hanes e Isherwood (1949). A câmara de cromatografia era idêntica à descrita por Block (1950), o solvente conforme Cabib (1951), e as manchas reveladas segundo James (1948). Nas cromatografias dos extratos empregavam-se simultaneamente, conforme as experiências, substâncias padrões mencionadas a seguir.

Colocando-se uma faixa do extrato sôbre o papel, na linha de origem, e fazendo-se a cromatografia com álcool etílico a 96%, conseguia-se uma purificação preliminar. A "revelação" de uma estreita fita lateral com o reagente

Recebido para publicação em 12.XII.53.

(1) Com auxílio parcial do Conselho Nacional de Pesquisas.

(2) "Bolsa Lederle de Farmacologia e Quimioterapia, 1953".

(3) Endereço permanente: Instituto de Investigaciones Bioquímicas, Fundación Campomar, Julian Alvares 1719, Buenos Aires.

(4) Nossos agradecimentos ao Prof. Dr. D. Fonseca Ribeiro, então Diretor do Instituto Butantan, pelo fornecimento dos ofídios empregados.

de ferricianeto, permitia a localização do material cromatografado e, consequentemente, a sua eluição com água. O eluato, evaporado em vácuo, era então recromatografado com o solvente álcool/cloreto de amônio (Cabib, 1951) ou com fenol em atmosfera de ácido cloridrico.

Ensaio biológico. Ensaiámos a atividade vaso-constritora dos eluatos na preparação vascular de Läwen-Trendelenburg empregando o *Bufo ictericus*, Spix, como animal de experiência e a técnica recomendada por Rapela (1948).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

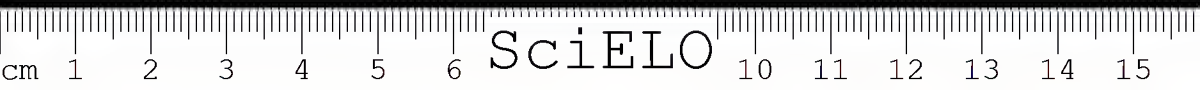
A cromatografia em papel dos extratos originais com etanol/cloreto de amônio revelou duas manchas com as mesmas côres da adrenalina e da nor-adrenalina respectivamente, mas com valores de Rf muito mais altos (Fig. 1). Quando a adrenalina e a nor-adrenalina eram misturadas ao extrato original sòmente apareciam aquelas duas manchas, talvez porque alguma impureza contida no extrato modificava os Rf das substâncias adicionadas. Por causa disto os extratos originais foram inicialmente purificados por cromatografia com etanol a 96%, e depois recromatografados com etanol/cloreto de amônio. Nessas condições apareceram duas manchas, que correspondiam à adrenalina e ao arterenol, e ainda uma terceira mancha, mais rápida, e que designamos mancha X (Fig. 2). Êste composto X, extraído do papel,. possuia propriedades vaso-constritoras quando ensaiado na preparação de Läwen-Trendelenburg. A mesma fig. 2 mostra que outras substâncias relacionadas tais como hidroxitiramina e epinina, que poderiam estar presentes nas adrenais, migram no papel com velocidade completamente diferente do composto X. Entretanto, quando uma amostra de epinina foi adicionada ao extrato antes da cromatografia, a mancha X foi reforçada (Fig. 2). Poder-se-ia pensar dai ser a substância responsável pela nova mancha a própria epinina mas a recromatografia com fenol da mancha X reforçada veio revelar duas manchas correspondentes, provavelmente, a duas substâncias diferentes. Preparando-se os extratos de adrenal com álcool /ácido cloridrico (Shepherd e West, 1952) em lugar de ácido tricloroacético, sòmente duas manchas, com os mesmos Rf da adrenalina e nor-adrenalina, apareceram no cromatograma.

Todos êstes resultados podem ser explicados se for feita a suposição de que a substância X corresponde a um composto da adrenalina com o ácido tricloroacético, do tipo descrito por Shepherd e West (1952). Na verdade, verificamos que adrenalina autêntica, misturada com um pouco de ácido tricloroacético antes da cromatografia, dá origem a duas manchas no cromatograma, uma com o Rf da adrenalina e outra, com um Rf bastante semelhante àquele da mancha X.

RESUMO

A adrenalina e o arterenol foram identificados, por cromatografia em papel, em extratos de adrenais de ofídios (*Philodryas* sp.).

Se os extratos são preparados com ácido tricloroacético, aparece nos cromatogramas uma terceira mancha, que possúi atividade vaso-constritora. Esta terceira substância corresponde provavelmente a um composto de adrenalina com ácido tricloroacético, do tipo descrito por Shepherd e West (1952).



LEGENDAS DAS FIGURAS

Fig. 2. *Diagrama de cromatograma de extrato adrenal purificado.*
A — mistura de adrenalina e nor-adrenalina sintéticas.
a) mancha da nor-adrenalina (azul); b) mancha da adrenalina (rosa).
B — Extrato original de adrenal.
C — Extrato original misturado com adrenalina e nor-adrenalina.

Fig 2. *Diagrama de cromatograma de extrato adrenal purificado.*
A — manchas de nor-adrenalina (a) e adrenalina (b).
B — Epinina
C — Extrato adrenal purificado; nor-adrenalina (a), adrenalina (b) e mancha X.
D — Extrato adrenal purificado misturado com epinina; nor-adrenalina (a), Adrenalina (b) e mancha X reforçada.
E — Hidroxitiramina.

CHROMATOGRAPHIC IDENTIFICATION OF ADRENALINE AND ARTERENOL IN SNAKE ADRENALS (1).

CATHARINA M. W. BRANDI (2), E. CABID (3) AND J. L. PRADO

(*Laboratórios de Farmacologia e Bioquímica da Escola Paulista de Medicina, São Paulo, Brasil and Instituto de Investigaciones Bioquímicas, Fundación Campomar, Buenos Aires, Argentina*).

Both adrenaline and arterenol have been reported to be present in extracts from the adrenal glands of several species (cf. von Euler, 1950). Valle & Porto (1945) determined the content of sympathomimetic substances in the adrenal glands of *Bothrops Jararaca*. As the biological assays then used do not give sufficient information about the nature of the compounds involved, it was decided to identify them by paper chromatography.

MATERIAL AND METHODS

Preparation of the extracts. Five to ten adult snakes *(Philodryas)* (4) were anesthetized with pentobarbital. The adrenal glands (average wet weight 27 mg) were freed as much as possible from adherent tissues, and the extracts for chromatography prepared as described by Cabib (1951).

Chromatography. Washed (Hanes and Isherwood, 1949) Whatman n.º 1 paper was employed throughout. The chromatographic chamber was similar to that devised by Block (1950). The solvent was the same previously used (Cabib, 1951) and the spost were revealed according to James (1948). Standard substances were always run by side with the unknowns in the same chromatogram.

In several instances a preliminary purification was carried out as follows: a band of the extract was applied along the starting line and chromatographed

1) Partially aided by a grant from the "Conselho Nacional de Pesquisas".
2) With the fellowship "Bolsa Lederle de Farmacologia e Quimioterapia, 1953".
3) Permanent address: Instituto de Investigaciones Bioquimicas, Fundación Campomar, Julian Alvares 1719. Buenos Aires.
4) Thanks are due to Prof. D. Fonseca Ribeiro, then Director of Butantan Institute, who supplied the snakes employed.

with 96 per cent ethanol. After spraying a guide marginal strip with the ferricyanide reagent, the whole band containing the substances was cut off and eluted with water. The eluate was evaporated in vacuo rechromatographed with the alcohol-ammonium chloride solvent (Cabib. 1951) or with phenol in a hydrochloric acid atmosphere.

Biological assay. The vaso-constricting activity of the eluates was tested on the vascular Läwen-Trendelenburg (L. T.) preparation with *Bufo ictericus* Spix, following the directions given by Rapela (1948).

RESULTS AND DISCUSSION

By paper chromatography of the original extracts with ethanol/ammonium chloride two spots were obtained with the same colors as adrenaline and nor-adrenaline respectively, but with much higher Rf values, as shown in Fig. 1. When adrenaline and nor-adrenaline were mixed with the original extracts prior to chromatography the same spots appeared as with the extract alone, suggesting that some impurity present in the latter was modifying the Rf values of the substances. Therefore the original extracts were first submitted to chromatography with 96 per cent ethanol, the compounds eluted from the paper and chromatographed again with ethanol/ammonium chloride. Two spots, corresponding to adrenaline and arterenol were obtained; but a third, faster-moving one (spot X) was also visible (Fig. 2). Compound X was extracted from the paper and found to be a vaso-constricting substance on the L. T. preparation. Other related substances, which might be present in the adrenals, such as hydroxytyramine and epinine, move along the paper at a rate completely different from that of compound X (Fig. 2). When some epinine, however, was added to the extract before chromatography, spot X was reinforced, as shown in Fig. 2. By chromatography of the extract mixed with epinine, followed by extraction of spot X and new chromatography with phenol, two spots were obtained, showing that epinine and substance X are probably different compounds. When alcohol/hydrochloric acid (Shepherd and West, 1952) was used instead of trichloroacetic acid to extract the adrenal glands, only two spots appeared on chromatography, with the same Rf values as adrenaline and arterenol.

All these results may be accounted for if it is assumed that substance X is an adrenaline-trichloroacetic acid compound, of the type described by Shepherd and West (1952). Moreover, addition of some trichloroacetic acid to authentic adrenaline before chromatography, results in the appearance of two spots, one with the same Rf as adrenaline and the other with Rf rather similar to that of spot X.

SUMMARY

Adrenalin and arterenol were identified by paper chromatography in extracts from snake adrenals (*Philodryas* sp.).

When trichloroacetic acid extracts were chromatographed, a third spot, corresponding to a vaso-constricting substance, also appeared. This third substance was tentatively identified as an adrenaline-trichloroacetic acid compound, of the type described by Shepherd and West (1952).

REFERENCES

1. *Block, R. J.* — Analyt. Chem. **22**: 1327. 1950.
2. *Cabib, E.* — Rev. Soc. Argent. Biol. **27**: 19. 1951.
3. *Euler, U. S. v.* — Ergebn. d. Physiol. **46**: 261. 1950.
4. *Hanes, C. S.* and *F. A. Isherwood* — Nature **164**: 1107. 1949.
5. *James, W. O.* — Nature 161: 851. 1948.
6. *Rapela, C. E.* — Methods in Medical Research, The Year Book Publishers, Chicago, **1**: 129. 1948.
7. *Shepherd, D. M.* and *G. B. West* — Nature **169**: 797. 1952.
8. *Valle, J. R.* and *A. Porto* — Mem. Inst. Butantan **18**: 247. 1944-45.



LEGENDS TO THE FIGURES

Fig. 1. *Diagram of a chromatography of original adrenal extract.*

A — Mixture of synthetic adrenalin and arterenol; a) arterenol sport (blue); b) adrenalin spot (pink).

B — Original adrenal extract.

C — Original adrenal extract mixed with adrenalin and arterenol.

Fig. 2. *Diagram of a chromatography of purified adrenal extract.*

A — Arterenol (a) and adrenaline (b) spots.

B — Epinine.

C — Purified adrenal extract; arterenol (a), adrenalin (b) and spot X.

D — Purified adrenal extract mixed with epinine; arterenol (a), adrenalin (b) and reinforced spot X.

E — Hydroxy-tyramine.



Fig. 1

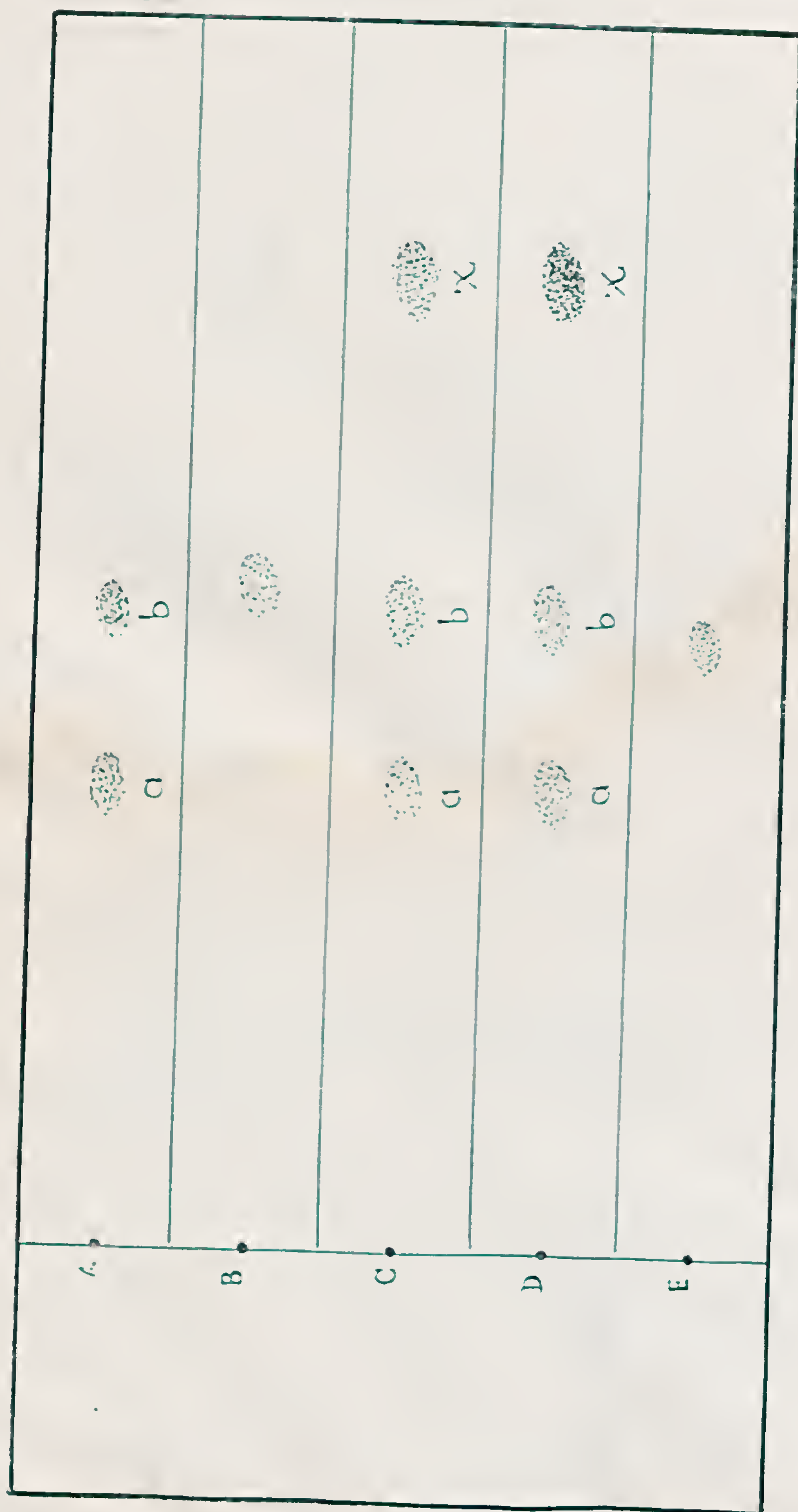


Fig. 2

Mem. Inst. Butantan,
25(2):45-53. 1953.

CONTRIBUIÇÃO AO CONHECIMENTO DAS FORMAS LARVÁRIAS DE TREMATÓIDES BRASILEIROS.

4 — Nota sôbre o sistema excretor da cercária de *Schistosoma mansoni*.

POR JOSÉ M. RUIZ

(*Secção de Parasitologia, Instituto Butantan*)

Cercaria blanchardi Pirajá da Silva, 1912 é o nome com que aparece, pela primeira vêz na literatura cientifica mundial uma cercária de *Schistosomatidae*. Foi ainda a primeira furcocercária descrita nas Américas.

A descrição sumária e a falta de dados anatômicos importantes não desmerecem a diagnóse original, perfeitamente compatível com a época. As dimensões e as figuras que ilustram o trabalho, as condições locais e o hospedeiro assinalado e figurado pelo autor, nos fazem sentir, como a Lutz, tratar-se da forma larvária de *Schistosoma mansoni*.

Quando Leiper (1915-1918) investigou o ciclo evolutivo de *Schistosoma haematobium* e *S. mansoni* no Egipto, não deu detalhes anatômicos das cercárias respectivas. Achava Leiper que sòmente a experimentação ou infestação de mamíferos poderia permitir a determinação da posição sistemática das cercárias.

A cercária de *Schistosoma japonicum*, conhecida desde 1913, foi descrita magistralmente por Cort em 1919.

Dizem Bettencourt & Borges (1924): "Depois da notável descrição de Cort da cercária do *Schistosoma japonicum*, o conhecimento das formas larvárias dos *Schistosoma* avançou de tal modo que é possível atualmente classificá-las quase tão fàcilmente quanto aos vermes adultos. Faust notadamente chamou a atenção para êsse fato e Soparkar (1921) vai alem, entendendo que para o estudo da distribuição geográfica do *S. spindalis*, nas Indias, será preferível a pesquisa das cercárias nos diversos moluscos da região do que a dos adultos nos vertebrados infestados".

Entretanto, daquela época em diante, muito se haveria de discutir sôbre certos pormenores morfológicos das cercárias das espécies de *Schistosoma*, principalmente sôbre as de *S. haematobium* e *S. mansoni*.

Entregue para publicação em 14.XII.53.



Atualmente seria ainda uma temeridade afirmar categòricamente que o problema da distinção específica das cercárias dos *Schistosomatidae* está perfeitamente resolvido. Certos pormenores anatômicos ainda permanecem em situação de conformismo. A descoberta de novas espécies de cercárias morfològicamente semelhantes às do gênero *Schistosoma,* como a de *Ornithobilharzia dattai,* por exemplo, veio trazer maiores dificuldades à identificação específica.

Essa identificação será mais ou menos difícil de acôrdo com a área geográfica objeto de estudo, devendo-se ainda ter em conta a possibilidade de encontro de espécies novas.

É portanto imperioso o estudo biológico e morfológico cada vez mais pormenorizado das formas larvárias afins, para se fazer frente ao seu reconhecimento específico e não voltar ao tempo de Leiper e fazer uso do seu conceito. Seria talvez até ridiculo ter-se de perfazer todo um ciclo biológico para se estabelecer a diagnose de uma cercária já descrita, fato que tornaria impossível a realização de inquéritos epidemiológicos.

Entre nós, como espécie humana, só ocorre o *S. mansoni,* cuja cercária não precisará ser diferenciada das espécies exóticas. Entretanto, devemos ter em conta, conforme já insistimos em outros trabalhos a presença de *Schistosomatidae* conhecidos cujas cercárias não foram ainda descritas ou relacionadas com as formas adultas. Alem disso, outras espécies não conhecidas ainda na forma adulta poderão existir e suas cercárias seriam outras tantas formas a exigir a diagnose diferencial.

Se a cercária do *S. mansoni* foi a primeira referida na literatura científica mundial e se cabe a um autor brasileiro a prioridade dessa referência, como já dissemos, não deixa isto de ser um motivo de orgulho para nós, mas confessemos tambem que no Brasil não se fêz dela ainda uma descrição acurada. A melhor descrição que temos é a de Lutz (1919) que deixa muito a desejar, não permitindo mesmo uma diagnose específica com o rigor científico que hoje o assunto requer.

Temo-nos valido das descrições de autores extrangeiros, notadamente das de Faust e sua escola. A descrição dêsse autor é, aliás, bôa. Há, entretanto, um ponto, de muita importância, que é necessário esclarecer, qual seja a ratificação adequada dos pormenores do sistema excretor, onde Faust e outros não se mostram exatos.

"Todos os autores estão de acôrdo com a presença, em ambas as espécies (*S. haematobium* e *S. mansoni*), de um par de células vibráteis na cauda, próximo à sua junção com o corpo, mas o número das mesmas no corpo da cercária de *S. mansoni* é tido como 3 (pares), por Khalil, 1922 e Archibald e Marshall, 1932; 4 (pares), por Iturbe, 1917 e Vogel, 1932; e 6 (pares) por Manson-Bahr e Fairley, 1920" (Gordon, Davey e Peaston, 1934).

"Idêntico desacôrdo existe com referência à posição das zonas vibráteis (que foram observadas apenas por alguns dos autores mencionados). Na cercária do *S. mansoni*, 2 pares dessas zonas foram observadas ora no comêço ora no fim do canal coletor principal, na parte dorsal do mesmo ou no canal secundário posterior" (Gordon, Davey e Peaston, *1934*).

Gordon, Davey e Peaston a seguir descrevem o sistema excretor das cercárias de *S. haematobium* e *S. mansoni* como sendo idêntico e apresentando 2 zonas vibráteis na porção dorsal do canal coletor principal, conforme já o notara Vogel, e 4 pares de células vibráteis no corpo: dois acima da zona acetabular e dois próximos à extremidade posterior.

No mesmo ano Faust e Hoffman, estudando material de Pôrto Rico, redescrevem a cercária do *S. mansoni* minuciosamente. Quanto ao sistema excretor não referem nem figuram as zonas vibráteis dos tubos coletores e descrevem apenas 3 pares de solenócitos no corpo além do par caudal. O mesmo aspecto referem outros autores em descrições originais, como Porter (1938) e Maldonado e Matienzo (1947), sendo êste o aspecto mais divulgado por autores diversos ou em compêndios de parasitologia.

Como vimos da citação de Gordon *et col.* (1934), a presença de 4 pares de solenócitos no corpo da cercária do do *S. mansoni* já fôra observado por Iturbe (1917) e por Vogel (1932).

OBSERVAÇÃO PESSOAL SOBRE O SISTEMA EXCRETOR DA CERCÁRIA DO *S. MANSONI*

Material e método: Moluscos procedentes de São Caetano, Município de Mariana, Minas Gerais, identificados por nós ao *Australorbis glabratus*. Material capturado em 5-VI-53 e examinado entre 11 e 17-VI-53. Taxa de infestação pelo *S. mansoni*, 7, 6 %.

Cercárias obtidas por dissecção dos moluscos. Estudo *in vivo*, sem coloração vital.

Prova de identificação das cercárias pela inoculação de cobáias e obtenção de formas adultas de *S. mansoni*.

Sistema excretor: Fizemos observações minuciosas sôbre o sistema excretor afim de verificar o número exato de solenócitos e a existência das zonas vibráteis, ja que êsses pormenores não estão ainda perfeitamente assentados.

Apurámos que realmente existem as duas zonas vibráteis, sendo visíveis sòmente em exemplares bem comprimidos, próximos da morte. É, aliás, nestas condições que melhor se evidenciam os pormenores do sistema excretor em geral.

Essas zonas estão situadas, uma após a outra, mantendo uma curta distância entre si, na alça que o canal coletor principal faz ao se dirigir para trás. Essa alça situa-se próximo e ligeiramente acima da zona acetabular, em altura variável, conforme a posição da cercária observada (vide figs. 1, 2, 3, 4).

As zonas vibráteis foram observadas na grande maioria das cercárias examinadas. Todavia, em algumas não conseguimos evidenciá-las, o que demonstra que é necessário examinar vários espécimes para a observação de determinados pormenores morfológicos.

Quanto à conexão entre as várias ramificações do sistema excretor é ela de difícil estabelecimento, requerendo grande aumento (imersão), e grande número de observações. Nos espécimes representados esquemàticamente nas figuras 1 e 2, verificámos com tôda segurança que o canal secundário anterior (Ca^2) se origina no ponto em que o canal coletor principal (C^1) se recurva para trás. Êsse pormenor está em desacôrdo com a posição *clássica* em que vêm referidas as zonas vibráteis, isto é, no canal coletor principal. Desde que a origem do canal secundário anterior seja no ponto referido, daquele ponto em diante C^1 deixa de existir para se transformar em dois canais secundários, um anterior e outro posterior (Cp^2), porquanto a concepção que temos sôbre a distinção dos tubos excretores é baseada em sua divisão dicotômica. A nomenclatura dos vários tubos poderá variar com os autores mas o princípio será sempre o mesmo.

No presente, se nossa observação neste ponto não foi a de uma anomalia, o canal recurvado, embora muito mais calibroso que o Ca^2, é na realidade o Cp^2.

Êste pormenor está em desacôrdo com o que se tem escrito e figurado com referência às cercárias de todos os *Schistosomatidae*, em que os canais secundários aparecem como oriundos num ponto mais posterior, isto é, no fim da curvatura em *U* invertido feita pelo canal principal. Cumpre notar que a ocorrência de zonas vibráteis no canal secundário posterior, embora pouco freqüente, já foi observada em pelo menos duas espécies de furcocercárias de estrigeídeos (*Cercaria macradena* Cort & Brackett, 1938 e *Cercaria micradena* C. & B.).

Com referência ao número e disposição dos solenócitos, verificámos que Ca^2 dá origem a dois capilares que terminam por sua vêz numa célula vibrátil (*1.ªc* e *2.ªc* das figuras). A primeira está localizada um pouco à frente da região equatorial do corpo e abaixo do anel nervoso (*N*, fig. 1). A posição da segunda célula vibrátil varia um pouco, sempre, porém, entre a primeira e o nível superior da zona acetabular.

O canal secundário posterior se prolonga pela cauda onde dá origem às células caudais (*ca*, fig. 1). Nas proximidades do extremo posterior do corpo, Cp^2 dá origem a um capilar que pode, desde logo, dividir-se em dois; teremos assim a presença de uma ou duas células vibráteis naquele local (*3.ªc* e *4.ªc*, fig. 1).

O ponto de discordância entre os autores é êste, com referência aos solenócitos do corpo. Uns afirmam a existência de uma única célula vibrátil; outros

estabelecem como definitiva a presença de duas. Segundo nossas verificações, podemos afirmar que ambos os casos podem ocorrer. A divisão binária nesse ponto é muito mais precoce que nos demais. Êste fato, entretanto, não deve ser interpretado como anomalia, conforme quer Porter (1938), em vista da freqüência com que se apresenta. Em 25 cercárias examinadas com essa finalidade, registamos a presença de duas células posteriores em 17, ou seja em 68%. Devemos frizar que tais cercárias foram obtidas por dissecção dos moluscos, antes portanto da emersão espontânea.

As células vibráteis do corpo aparecem nitidamente como corpos triangulares alongados, medindo de 0,075 mm de comprimento por 0,026 de largura máxima; os flagelos vibráteis formam três ondulações no interior das células. Todas as células do corpo são pràticamente do mesmo tamanho. As da cauda, porém, são bem maiores. Distinguem-se fàcilmente das zonas vibráteis que são tubulares, de comprimento subigual ou um pouco mais longas, porém mais estreitas, medindo cêrca de 0,013 mm de diâmetro; os flagelos vibráteis não formam ondulações tão nitidas e são geralmente mais ativos.

Protocolo das inoculações

1. Ref. 466. Inoculação 39. Data 18-6-53

   Material inoculado: cercárias procedentes de um único molusco infestado pelo *S. Mansoni.*

   Animais utilizados: duas cobaias de sexos opostos.

   Via de inoculação: transcutânea, região ventral.

2. *Resultados*

   a) Cobaia fêmea sacrificada em 4-9-53.
   Vermes coletados pela perfusão, em separado, do fígado e do mesentério. Número de vermes coletados: Fígado — 42 vermes machos. Mesentério — 13 vermes machos. Vermes bem desenvolvidos identificados ao *S. mansoni.*

   b) Cobaia macha sacrificada em 21-9-53.
   Vermes coletados em idênticas condições. Fígado — 49 vermes machos. Mesentério — 55 vermes machos. Material identificado ao *S. mansoni.*

RESUMO

É apresentado um estudo do sistema excretor da cercária do *Schistosoma mansoni.*

Foi verificada a presença de duas zonas ciliadas ou vibráteis proximas à base do canal secundário posterior, *Cp* ².

A fórmula do sistema excretor é igual a 2 (2+2 (+1)) = 8 (+2) em 68% e 2 (2+1 (+1)) = 6 (+2) em 32% das 25 cercárias estudadas.

A inoculação de duas cobaias com o material procedente do mesmo molusco, revelou forte infestação constituida sòmente por machos de *Schistosoma mansoni*.

SUMMARY

A study of the excretory system of the *Schistosoma mansoni* cercariae was undertaken.

The presence of two ciliated areas was seen near the basis of the posterior collecting channels. Cp^2

Formula of the excretory system is equal to 2(2+2 (+1)) = 8(+2) in 68% and 2 (2+1 (+1)) = 6(+2) in 32% of the 25 specimens that were examined. Two guinea-pigs were infected with cercariae from the same mollusc. After the prepatent period only several males of *Schistosoma mansoni* were recovered.

BIBLIOGRAFIA

1. *Bettencourt, A & Borges, I.* — Rapport de la mission de l'Institut Camara Pestana pour l'etude de la bilharziose à Portugal. *Arq. Inst. Bact. Camara Pestana,* **5**: 189-230. 1924.
2. *Bettencourt, A. & Silva, E. P.* — The cercaria of *Schistosoma haematobium* with reference to an article of Blacklock and Thompson on human schistosomiasis in Sierra Leone. *Ibid.,* **6**: 1-21. 1932.
3. *Blacklock, D, B. & Thompson, M. G.* — Observations on the classification of certain. Schistosome cercariae. *Ann. Trop. Med. & Parasitol.,* **18**: 235. 1924.
4. *Cort, W. W.* — Homologies of the excretory system of the forked-tailed cercariae. *J. Parasitol.,* **4**: 49-57. 1917.
5. *Cort, W. W.* — The cercaria of the japanese Blood-Flukes *Schistosoma japonicum* Katsurada. *Univ. Calif. Publ., Zool.,* **18**: 485-507. 1919.
6. *Dutt, S. C. & Srivastava, H. D.* — On the morphology and life-history of new Mammalian Blood-fluke *Ornithobilharzia dattai* n. sp. *Parasitology,* **42** (1, 2): 144-150. 1952.
7. *Gordon, R. M., Davey, T. H. & Peaston, H.* — The transmission of human bilharziasis in Sierra Leone, with an account of the life-history of the Schistosomes concerned. *S. mansoni* and *S. Haematobium*. *Ann. Trop. Med. & Parasitol.,* **28** (3): 323-414. 1934.
8. *Faust, E. C.* — Studies on Illinois Cercariae. *J. Parasitol.,* **4**: 93-110. 1918.
9. *Faust, E. C.* — Notes on South African Cercariae. *J. Parasitol.,* **5**: 165. 1919.
10. *Faust, E. C.* — Criteria for the differenciation of Schistosome larvae. *J. Parasitol.,* **6**: 192. 1920.
11. *Foust, E. C.* — Notes on South African larval Trematodes. *J. Parasitol.,* **8**: 11. 1921.

12. *Faust, E. C.* — The Molluscan Phase of the Life Cycle of *Schistosoma mansoni. J. Parasitol.*, **20**: 131. 1933.

13. *Faust, E. C.* — Human Helminthology. *Lea & Febiger ed. Philad.* 744 pp. 1949.

14. *Faust, E. C. & Hoffman, W. A.* — The molluscan phase of the life-cycle of *Schistosoma mansoni., J. Parasitol.*, **20**: 131. 1933.

15. *Faust, E. C. & Hoffman, W. A.* — Studies on *Schistosomiasis mansoni* in Puerto Rico. III. Biological Studies. 1. The extra-mammalian phases of the life-cycle. *Puerto Rico J. Publ. Health, Trop. Med.*, **10**: 1-79. 1934.

16. *Fain, A.* — Description de la cercàire de *Schistosoma intercalatum* Fischer, 1934 et d'une nouvelle xiphidiocercàire du grop *Ornatae* (sous-group Prima). *Ann. Soc. Belge Med. Trop.*, **32** (5): 433-443. 1952.

17. *Lutz, A.* — O *Schistosomum mansoni* e a Schistosomatose segundo observações feitas no Brasil. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, **11**: 121-155. 1919.

18. *Lutz, A.* — Notas sobre Dicranocercárias brasileiras . *Ibid.*, **27**: 349. 1933.

19. *Maldonado, J. F. & Matienzo, J. A.*, — The development of *Schistosoma mansoni* in the snail intermediate host, *Australorbis glabratus. Puerto Rico J. Publ. Health, Trop. Med.*, **22** (4): 331-373. 1947.

20. *Mohamed, A. S.* — The secretory glands of the cercariae of *S. haematobium* and *S. mansoni* from Egypt. *Ann. Trop. Med. & Parasitol.*, **26**: 7. 1932.

21. *Pinto, C. & Almeida, A. F.* — Esquistosomiasis Mansoni no Brasil *Inst. Oswaldo Cruz, Monogr. n.º* 5, 287 pp. 1945.

22. *Porter, A.* — The Larval Trematode found in certain South African Mollusca. With special reference to Schistosomiasis (Bilharziasis). *South African Inst. Med. Res.*, **8**: 1-492. 1938.

23. *Sewell, R. B. S.* — *Cercariae Indicae. Ind. J. Med. Res.*, **10** (supl.): 1-70 1922.

24. *Silva, Pirajá da* — Cercaire brésilienne (*Cercaria Blanchardi*) á queue bifurquée. *Arch. Parasitologie*, **15**: 38. 1912.

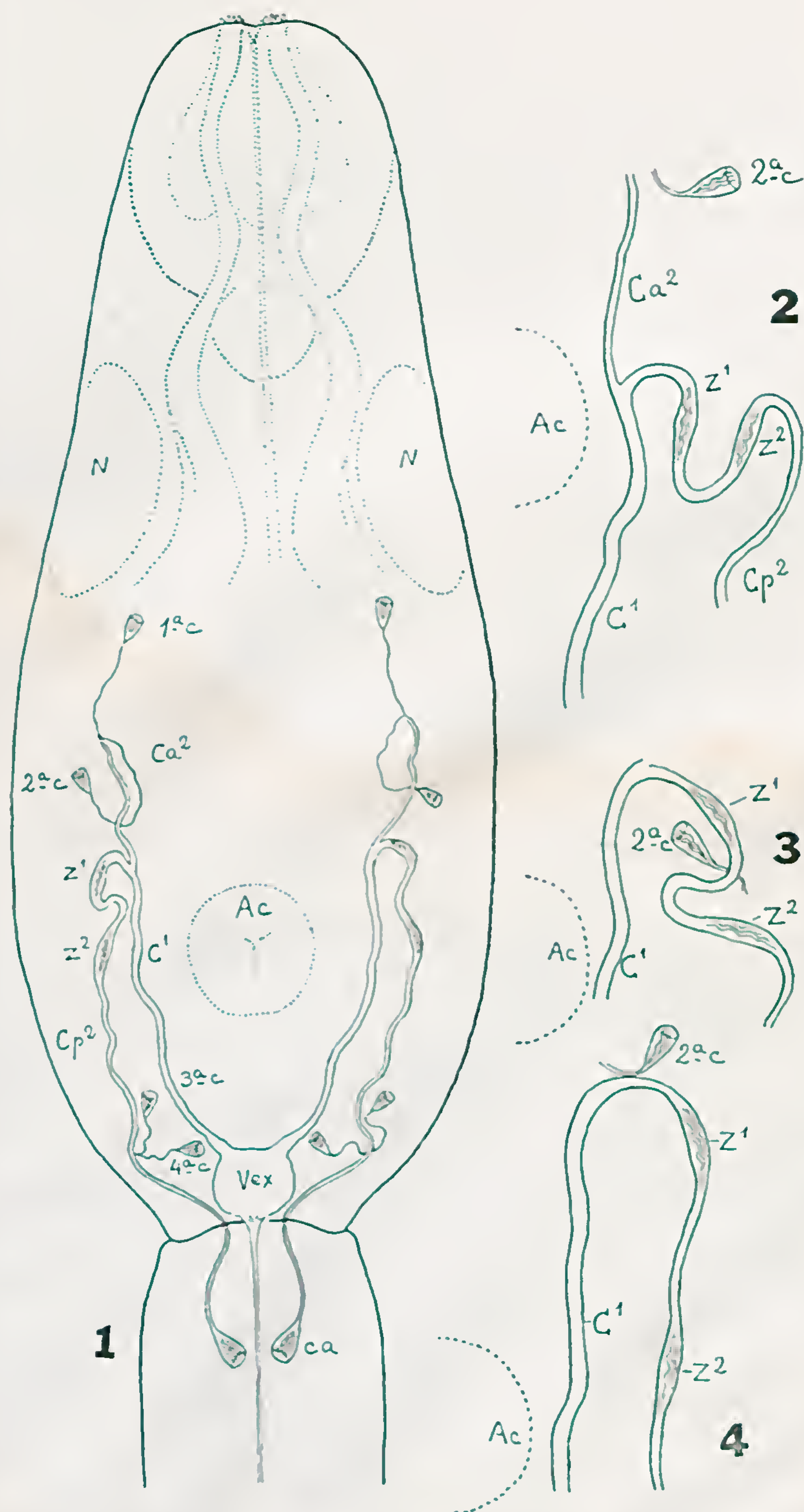


EXPLICAÇÃO DAS FIGURAS

Fig. 1 — Cercaria de *S. mansoni*. Desenho à mão livre mostrando a disposição do sistema excretor.

Figs. 2, 3 e 4. — Pormenores dos tubos coletores ao nível da zona acetabular, mostrando as relações entre a 2.ª célula vibrátil e as zonas vibráteis. *Ac* — Acetábulo. C^1 — Canal coletor primário ou principal. *c* — Célula vibrátil do corpo. *ca* — Célula vibrátil caudal. Ca^2 — Canal coletor secundário anterior. Cp^2 — Canal coletor secundário posterior. *N* — Anel nervoso. *Vex* — Vesícula excretora. *Z* — Zona vibrátil ou zona ciliada.

Mem. Inst. Butantan,
25(2):29-33, 1953.




cm 1 2 3 4 5 6 SciELO 10 11 12 13 14 15

ESTUDOS DE HEMATOLOGIA COMPARADA. II — DADOS HEMATOLÓGICOS DO CACHORRO DO MATO, *CERDOCYON THOUS AZARAE*. (WIED, 1826) (*)

L. HOEHNE & G. ROSENFELD.

(Laboratório de Hematologia. Instituto Butantan, S. Paulo, Brasil)

Em prosseguimento dos estudos de Hematologia Comparada, são apresentados no presente trabalho os dados hematológicos do cachorro do mato, *Cerdocyon thous azarae* (Wied, 1826) (4).

MATERIAL E MÉTODOS

Foram examinados 4 exemplares de *Cerdocyon thous azarae* (Wied, 1826) recebidos 3 do Estado de Mato Grosso e 1 do Estado de São Paulo, Brasil.

O sangue, retirado da veia femoral,foi heparinizado na dose de 1 mg/1 ml de sangue. O sangue para os esfregaços foi obtido mediante corte da ponta da unha de acôrdo com o metodo para cobaias proposto por Vallejo-Freire (3).

As hemácias eram contadas em 1/5 mm^2; a hemoglobina, determinada em electrofotómetro; o hematocrito, feito no tubo de Wintrobe, após centrifugação a 4.000 rpm durante 30 minutos; a hemosedimentação foi determinada no tubo de Wintrobe após 60 minutos. Os reticulócitos, contados em 1.000 hemácias, em esfregaços de sangue fixado, para cada animal. Os leucócitos, contados em 2 mm^2; a contagem específica, realizada em 100 células em esfregaços corados pelo metodo de Rosenfeld (1). O diâmetro médio foi verificado em 200 hemácias, em esfregaços corados.

Determinou-se a média de todos os valores, sendo σ o desvio padrão dos valores individuais; $\sigma\bar{x}$ o desvio padrão da média; C e $C\bar{x}$ o coeficiente individual de variação e o coeficiente de variação da média, respectivamente.

(*) Trabalho feito com o auxilio de fundos do Conselho Nacional de Pesquisas. Recebido para publicação em 31.XII.1953.

RESULTADOS

Hemácias — O número médio de hemácias foi de 5.120.000/mm^3, havendo maior variação no animal N.º 6319, que era mais jovem que os outros. A concentração de hemoglobina, cuja média era de 12,72 g%, também se apresentava mais baixa neste exemplar. A hemoglobina média das hemácias era de 24,7γγ e quase a mesma em todos os exemplares. Na Tabela I acham-se os dados numéricos das hemácias.

O Gráfico I mostra o diâmetro das hemácias de cada exemplar; e o Gráfico II, a média dêsse diâmetro em todos os exemplares.

As hemácias eram bicôncavas e circulares. Não ocorria anisocitose nem poiquilocitose. Era evidente a policromasia em todos os exemplares; e, em 3 dentre os 4, acharam-se raros eritroblastos.

Leucócitos — Seu número médio era de 7.275/mm^3, apresentando-se algo mais elevado no exemplar N.º 6202. Os valores médios para contagem específica eram os seguintes: neutrófilos em bastonete 6,25%; neutrófilos segmentados — 53,2%; eosinófilos — 9%; basófilos 0,75%; linfócitos — 24,7%; monócitos — 6%. Na Tabela II se indicam outros dados numéricos dos leucócitos.

DISCUSSÃO

Na literatura não foram encontrados dados hematológicos do cachorro do mato, mas sòmente do cachorro doméstico e da raposa, que representam os gêneros mais afins ao de *Cerdocyon thous azarae* (Wied, 1826). Todavia, os dados hematológicos do cachorro do mato não se assemelham aos da raposa, aproximando-se dos do cachorro doméstico. Enquanto na raposa o número médio de hemácias é de 7.990.000/mm^3, o volume médio — 53μ^3 e a hemoglobina corpuscular média = 16γγ (Wintrobe (5)), no cachorro do mato a média é de: 5.120.000 hemácias/mm^3; volume, de 98,77μ^3 e hemoglobina corpuscular, 24,7γγ. No cachorro doméstico, embora os valores sejam mais próximos aos do cachorro do mato, existe uma diferença maior no volume corpuscular médio que, naquele, é de 73,3μ^3 (2), enquanto nêste é de 98,77μ^3.

Ao demais, foi observado, frequentemente, nos animais selvagens um valor corpuscular maior do que o encontrado nas espécies domésticas afins. Possivelmente, nas condições naturais, as dificuldades na obtenção de alimento poderiam ser responsáveis pelas deficiências dos fatores necessários à maturação das hemácias (F.M.E.).

RESUMO

Quatro exemplares de *Cerdocyon thous azarae* (Wied, 1826) (cachorro do mato) foram examinados. Os resultados para a série vermelha foram os seguintes: hemácias — 5.120.000/mm³: hemoglobina — 12.72%: hemoglobina corpuscular média — 24.7 γγ: hematócrito — 49.7%: volume médio — 98.77 μ³, reticulócitos — 2.5%; diametro médio — 8.17 μ; hemosedimentação — 1.0mm em 60 minutos. Policromasia existia em todos os animais e eritroblastos foram encontrados em 3 dos 4 espécimes examinados.

Os resultados para os leucócitos foram os seguintes: contagem global: 2.275/mm³; contagem diferencial: neutrófilos em bastonete — 6.25%; neutrófilos segmentados — 53.2%: eosinófilos — 9%; basófilos — 0.75%; linfócitos — 24.7%: monócitos — 6%.


cm 1 2 3 4 5 6 SciELO 10 11 12 13 14 15

Mem. Inst. Butantan,
25(2):59-65. 1953.

STUDIES OF COMPARATIVE HEMATOLOGY, II — HEMATOLOGICAL DATA OF *CERDOCYON THOUS AZARAE* (WIED, 1826) (CACHORRO DO MATO) (*)

L. HOEHNE & G. ROSENFELD.

(Laboratory of Hematology, Instituto Butantan — S. Paulo, Brasil)

As a sequence to the studies of comparative hematology, in the present paper are reported the hematological data of the wild dog (cachorro do mato) *Cerdocyon thous azarae* (Wied, 1826) (4).

MATERIAL AND METHODS

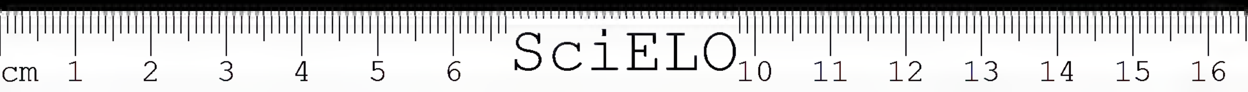
Four specimens of *Cerdocyon thous azarae* (Wied, 1826), were examined, coming 3 from the State of Mato Grosso and 1 from the State of S. Paulo, Brazil.

The blood was withdrawn from the femoral vein and heparinized in the dose of 1 mg/1 ml of blood. The blood for the smears was obtained by cutting the tip of the nail, according to the method proposed by Vallejo for guinea-pigs (3).

The red blood cells were counted in 1/5 mm^2; the hemoglobin was determined in the electrophotometer; the hematocrit was determined in Wintrobes tube, centrifuged for 30 minutes at 4.000 rpm; the red blood cell sedimentation rate was determined in Wintrobe's tube after 60 minutes. The reticulocytes were counted in 1.000 red blood cells for each animal, in fixed blood smears. The leucocytes were counted in 2 mm^2. The differential count was done in 100 cells, in smears stained by the method of Rosenfeld (1). The diameter was measured in 200 red blood cells, in stained smears.

The mean for all values was determined, σ being the standard deviation of the individual values, $\sigma\bar{x}$ the standard deviation of the mean; C and $C\bar{x}$ the individual coefficient of variation and the coefficient of variation from the mean, respectivelly.

(*) This work was supported by a fund from the Conselho Nacional de Pesquisas.



RESULTS

Red blood cells — The mean number of red blood cells was 5.120.000/mm³ there ocuring a greater variation in the animal N°. 6319, which was younger than the others. The hemoglobin concentration was also lower in this animal, the mean being 12.72 g%. The mean corpuscular hemoglobin was 24.7 γγ, and almost the same in all animals. The numeric data of the red blood cells are shown on Table I.

Graph I shows the diameter of the red blood cells of each animal, and Graph II, the mean of their diameter in all animals.

The red blood cells were biconcave and circular. Anysocitosis and poikilocytosis did not occur. Polychromasia was evident in all animals. In 3 out of 4 animals, rare erythroblasts were found.

Leucocytes — The mean number of leucocytes was 7.275 mm³, being a little higher in animal n.º 6202. The mean values for the differential count were the following; stab neutrophils — 6.25%; segmented neutrophils — 53.2%; eosinophils — 9%; basophils — 0.75%; lymphocytes — 24.7%; monocytes 6%. Other numeric data of the leucocytes are shown on Table II.

DISCUSSION

Hematological data on the wild dog were not found in literature. We found only data on the domestic dog and the fox, the nearest genera to *Cerdocyon thous azarae* (Wied, 1826). However, the hemotological data of the wild dog are not similar to these of the fox, being closer to those of the domestic dog. Whereas in the fox the mean number of red blood cells is .... 7.990.000/mm³, the mean volume = 53μ³ and the mean corpuscular hemoglobin = 16 γγ (Wintrobe (5)), in the wild dog there is a mean of 5.120.000 red blood cells/mm³, the mean volume is 98.77 μ³ and the mean corpuscular hemoglobin is 24.7 γγ. In the domestic dog, the values are closer to those of the wild dog, but a greater difference ocurs in the mean corpuscular volume that is 73.3 μ³ in the domestic dog (2) and 98.77 μ³ in the wild dog.

Otherwise, we observed a greater corpuscular volume to occur frequently in wild animals when compared with their domestic relates species. Possibly, under natural conditions, the difficulties in obtaining food could be responsible for a deficiency of the factors needed for the red blood cells maturation (F.M.E.).

SUMMARY

Four specimens of *Cerdocyn thous azarae* (Wied, 1826) (cachorro do mato) were examined.

The results for the red blood cells were the following: red blood cells — 5.120.000/mm³; hemoglobin — 12.72 g%; mean corpuscular hemoglobin — 24.7 γγ; hematocrit — 49.7%; mean corpuscular volume — 98.77 μ³; reticulocytes — 2.5%; mean diameter — 8.17μ; red blood cells sedimentation rate — 1.0 mm in 60 minutes. Polychromasia was present in all, and erythroblasts, in 3 of 4 animals.

For the leucocytes, the results were the following: total count — 7.275/mm³; differential count: stab neutrophils — 6.25%; segmented neutrophils — 53.2%; eosinophils — 9%; basophils — 0.75%; lymphocytes — 24.7%; monocytes — 6%.

BIBLIOGRAPHY

1. *Rosenfeld, G.* — Corante pancrômico para hematologia e citologia clínica; Nova combinação dos componentes do May-Grünwald e do Giemsa num só corante de emprego rápido. *Mem. Inst. Butantan*, **20**: 329, 1947.
2. *Rosenfeld, G. and Hoehne, L.* — Studies on comparative hematology: III — Hematimetric data of the domestic dog, *Mem. Inst. Butantan*, **25**: 67, 1953.
3. *Vallejo-Freire, A.* — A simple technique for repeated collection of blood samples from guinea-pigs. *Science*, **114**: 524, 1951.
4. *Wied, M. zu* — Beiträge zur Naturgeschichte von Brazilien, Weimar, Landes-Industrie-Comptoirs, *II Band*: 338, 1826.
5. *Wintrobe, M. M.* — Variations in the size and hemoglobin content of erythrocytes in the blood of various vertebrats, *Folia haematologica*, **51**: 32, 1934.

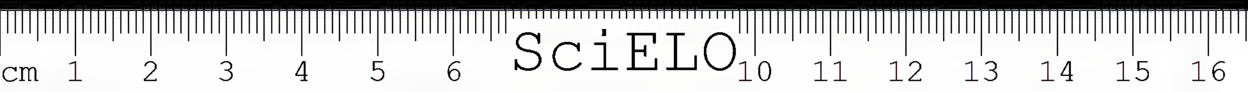


TABLE I

Cerdocyon thous azarae (Wied, 1826).

RED BLOOD CELLS

Animal Nr.	R. B. C. x 10^6/m^3	Hemoglobin gr%	Mean corp. hemoglobin γγ	Hematocrit %	Mean corp. volume μ^3	Reticulocytes %	Mean diameter μ	R. B. C. sedimentation rate mm/60 min.
6236	6,0	14,8	24,6	52,1	87,9	1,1	8,0	2
6202	5,1	12,9	25,2	55,0	107,8	1,3	8,3	0
6243	5,9	14,2	24,0	53,0	89,8	3,9	9,0	1
6319	3,5	8,9	25,1	38,6	110,2	4,5	8,9	1
Mean	5,12	12,721	24,7	49,7	98,77	2,511	8,17	1,06
σ	0,95	2,67	0,55	7,51	11,87	1,637	0,162	0,514
$\sigma_{\bar{x}}$	0,47	1,19	0,08	3,75	5,91	0,818	0,081	0,257
C %	18,7	20,9	2,22	14,12	12,01	65,19	1,98	4,81
$C_{\bar{x}}$ %	9,56	8,9	0,34	7,54	6,01	32,57	0,99	2,42

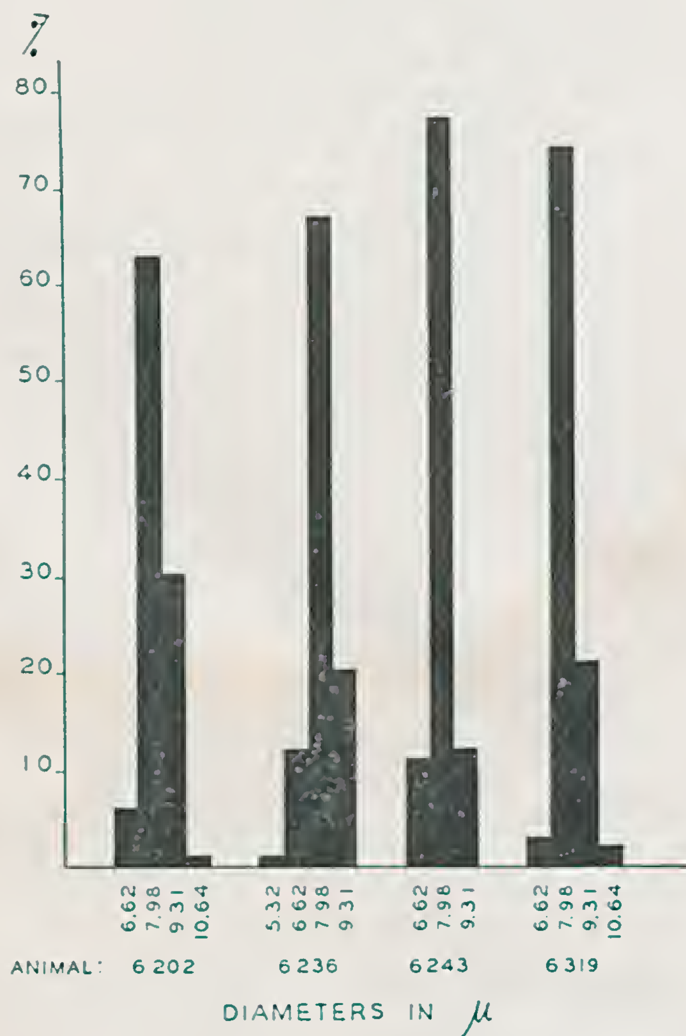
Mem. Inst. Butantan.
25(2):59-65. 1953.

TABLE II

Cerdocyon thous azarae (Wied, 1826).

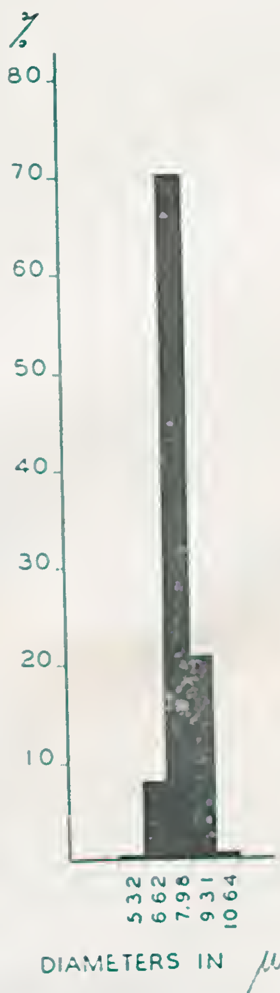
LEUCOCYTES

Animal Nr.	Leucocytes x 10³/mm³	Differential count %						Observations			
		Neutrophils		Eosinophils	Basophils	Lymphocytes	Monocytes	Erythroblasts	Polychromasia	Sex	Diseases or infestations
		Stab	Segmented								
6236	7,3	7	39	11	1	32	10	3	+	In	Blood: Microfilaria.
6202	10,1	5	59	13	1	29	1	3	++	♂	Stools: Eggs of Ancylostomidae and Trichuridae
6243	5,2	5	62	5	1	25	2	1	++	♂	Stools: Eggs of Ancylostomidae.
6319	6,3	8	62	7	0	13	10	0	+++	♂	
Mean	7,275	6,25	53,2	9	0,75	24,7	6				
σ	2,083	1,49	11,04	3,64	0,498	8,33	4,61				
σx̄	1,039	0,74	5,52	1,82	0,242	3,54	2,30				
C%	28,63	23,8	20,75	40,44	66,4	33,72	76,83				
Cx̄%	11,28	11,8	10,37	20,22	8,2	15,54	38,33				



GRAPH I

CERDOCYON THOUS AZARAE (Wied., 1820)
Individual diameters of red blood cells



GRAPH II

CERDOCYON THOUS AZARAE (Wied. 1826)
Red blood cells diameters
Mean of four animals


cm 1 2 3 4 5 6 SciELO 10 11 12 13 14 15

Mem. Inst. Butantan.
25(2):67-68. 1953.

ESTUDOS DE HEMATOLOGIA COMPARADA. III — DADOS HEMATIMÉTRICOS DO CÃO DOMÉSTICO. (*)

G. ROSENFELD & L. HOEHNE

(Laboratório de Hematologia, Instituto Butantan, S. Paulo, Brasil)

No desenvolvimento de nosso programa de Hematologia Comparada, fizemos estudos do sangue de cachorros domésticos, nas condições em que o Depósito Municipal de São Paulo costuma enviá-los aos laboratórios. Êsses cachorros apresentavam-se nas mais diferentes condições quanto a raça, sexo, idade, tamanho e saude. Não lhes demos alimento especial, nem os submetemos a prévio tratamento para eliminação de parasitos intestinais; por isso mesmo, preferimos chamá-los "cães usuais" a "cães normais". Os dados que ora divulgamos decorrem do exame hematológico inicial, realizado em uma grande série de experiências nos últimos cinco anos.

MATERIAL E METODOS

O sangue, retirado da veia femural, foi heparinizado na dose de 0.1 mg/1 ml de sangue. Os esfregaços foram feitos com o sangue antes da adição do anti-coagulante.

As hemácias foram contadas em 1/5 mm²; a hemoglobina, determinada em electrofotómetro; o hematocrito, feito no tubo de Wintrobe, após centrifugação a 4.000 rpm durante 30 minutos; a hemosedimentação determinada no tubo de Wintrobe após 60 minutos. Os leucócitos, contados em 2mm²; a contagem específica, realizada em esfregaços corados pelo processo de Rosenfeld (9). Os resultados representam médias entre 2 contagens.

Os resultados correspondem a 60 cães quanto às hemácias, e a 30 cães quanto aos leucócitos. O desvio padrão σ e o desvio padrão da média σ bem como o coeficiente individual de variação C e o coeficiente variação da média $C\bar{x}$ foram igualmente calculados.

RESULTADOS

Hemácias — O seu número médio em 60 cães foi de 6.200.000/³; hemoglobina — 13,8g%; média hemoglobina corpuscular de 22,2γγ; hematocrito

(*) Trabalho feito com o auxilio de fundos do Conselho Nacional de Pesquisas.

Recebido para publicação em 31.XII.53.

— 45,4% : volume médio corpuscular — 73,3μ^3; taxa de sedimentação das hemácias em 60 minutos — 14.8 mm; hemólise parcial — 0,47% NaCl; hemólise total — 0,33% NaCl. Na Tabela I acham-se os dados numéricos das hemácias.

Leucócitos — Seu número médio em 30 cães era de 11.080/mm^3. Contagem específica: neutrófilos em bastonetes — 11.3%; neutrófilos segmentados — 51,3%; eosinófilos — 8,9%; basófilos — 0,6%; linfócitos — 20,1%; monócitos — 7,4%; plasmócitos — 0.2%. Na Tabela II se indicam outros dados numéricos dos leucócitos.

DISCUSSÃO

A Tabela III resume os dados de outros pesquisadores com relação ao sangue em séries de cães em número aproximado dos nossos. Pode-se acentuar que a maior parte dêsses estudos foi feita em cães submetidos a tratamento e regime especiais e, por isso, chamados "cães normais". Musser e Krumbhaar (8), todavia, segundo citação de H.S. Mayerson (6), trabalharam com cães comuns, segundo fizemos. É curioso observar a notável semelhança dos nossos dados relativos ao "cão usual" com os dados de Musser e Krumbhaar (8) relativos ao "cão comum" e os dados de Ashley (1), Bruner (2), Cruz (3) Landsberg (4), Leichsenring (5), Mayerson (6), Morris (7) e Wintrobe (10), relativos ao "cão normal".

Existe uma concepção intuitiva de que os "cães comuns" sejam geralmente anêmicos e subnutridos por efeito de suas verminoses e más condições de vida. Entretanto, os nossos resultados revelam que mesmo êsses cães podem ser usados em experiências sem prejuizo dos resultados e, do ponto de vista hematológico, podem ser considerados tão bons quanto os "cães normais".

RESUMO

Estudos hematimétricos de cães de rua não tratados com dieta especial ou com vermífugos (cão usual) revelaram:

Para as hemácias (60 cães): hemácias — 6.200.000/mm^3; hemoglobina — 13.8%; hemoglobina corpuscular média — 22.2 $\gamma\gamma$; hematócrito — 45.4%; volume médio — 73.3 μ^3; hemosedimentação — 14.8/60 minutos; hemólise parcial — 0.74% NaCl; hemólise total — 0.33% NaCl.

Para os leucócitos (30 cães): contagem global: 11.080/mm^3: contagem específica: bastonetes — 11.3%; segmentados — 51.3%; eosinófilos — 8.9%; basófilos: 0.6%; linfócitos — 20.1%; monócitos — 7.4%; plasmócitos — 0.2%.

A identidade dêstes resultados com os de outros pesquisadores para o "cão normal", isto é, sem moléstias e com alimentação racional, faz que se possa considerar o cão de rua (cão usual) igual ao cão normal para trabalhos hematológicos em geral.

Mem. Inst. Butantan,
25(2):89-75. 1953.

STUDIES OF COMPARATIVE HEMATOLOGY, III — HEMATIMETRIC DATA OF THE DOMESTIC DOG. (*)

G. ROSENFELD & L. HOEHNE

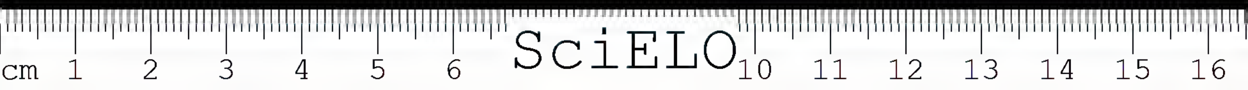
(Laboratory of Hematology, Instituto Butantan — S. Paulo)

In the course of our program of Comparative Hematology, studies were made of the blood of domestic dogs ("street dogs"), as they are habitually sent to the research laboratoriaes by the Deposito Municipal of S. Paulo. These were dogs of the most different conditions in respect to breed, sex, age, size and sanitary conditions. No special food was given to them, and no previous treatment was undertaken for the removal of intestinal parasites. Therefore, we used the denomination "usual dog" instead of "normal dog". The data here reported were collected from the initial hematological examination of a large series of experiments carried out on the last five years.

MATERIAL AND METHODS

Blood was withdrawn from the femoral vein and heparin was added in the dose of 0.1 mg/ml. The smears were made with the same blood, before adding the anticoagulant. The red blood cells were counted in 1/5 mm², and the leucocytes in 2 mm²; the results represent the mean between two counts. The hemoglobin was determined in the electrophotometer; the red blood cell sedimentation rate was determined in Wintrobe's tube after 60 minutes. The hematocrit was determined in Wintrob's tube, centrifuged for 30 minutes at 4.000 rpm. The specific count of leucocytes was done in smears stained by Rosenfeld's method (9). Our results are from 60 dogs for the red blood cells, and from 30 for the white ones. The standard deviation σ and the standard deviation of the mean $\sigma\bar{x}$ the individual coefficient of variation C and the coefficient of variation of the mean $C\bar{x}$ were calculated.

(*) This work was supported by a fund from the Conselho Nacional de Pesquisas.
Received por publication 31-XII-1953.



RESULTS

The mean results for the red blood cells, in 60 dogs were the following: red blood cells — 6.200.000/mm^3; hemoglobin — 13.8 g%; mean corpuscular hemoglobin 22.2 γγ; hematocrit — 45.4%; mean corpuscular volume — 73.3 μ^3; red blood cell sedimentation rate in 60 minutes — 14.8 mm; fragility test: partial hemolysis — 0.47% NaCl; total hemolysis — 0.33% NaCl. The numeric data of the red blood cells can be observed on Table I.

The mean results for the leucocytes in 30 dogs were the following: total count of leucocytes: 11.080/mm^3; specific count: stab neutrophils — 11.3% segmented neutrophils — 51.3%; eosinophils — 8.9%; basophils — 0.6%: lymphocytes — 20.1%: monocytes — 7.4%: plasmocytes — 0.2%.

Other numeric data of the leucocytes are on Table II.

DISCUSSION

In Table III data of blood studies made by other researchers in series of dogs in number close to our own, are summarized. It may be pointed out that most of these studies were made in dogs submitted to special treatment and diets, and therefore called "normal dog". Musser and Krumbhaar (8), however, as quoted by H. S. Mayerson (6), worked with common dogs, as we did. It is curious to observe the striking similarity of our data for the "usual dogs" to the data of Musser and Krumbhaar (8) for the "common dogs" and the data of Ashley (1), Bruner (2), Cruz (3), Landsberg (4), Leichsenring (5), Mayerson (6), Morris (7), and Wintrobe (10), for the "normal dogs".

There is an intuitive conception that the common dogs are generally anemic and undernourished, because of their verminoses and poor life condition. Nevertheless our results show that even these dogs can be used in experiments without detriment of the results, and can be considered, from the hematological point of view, as good as "normal dogs".

SUMMARY

Hematimetric studies of street dogs without any special food or special treatment for removing intestinal parasites, "usual dogs", have given the following results:

For red blood cells (60 dogs): 6.200.000/mm^3; hemoglobin — 13.8%; mean corpuscular hemoglobin — 22.2 γγ; mean corpuscular volume — 73.3μ^3; red blood cells sedimentation rate — 14.8 mm in 60 minutes; hematocrit — 45.4%; fragility test: partial hemolysis — 0.47% NaCl; total hemolysis —

For the leucocytes (30 dogs): total count: 11.080/mm³; specific count: stab neutrophils — 11.3%: segmented neutrophils — 51.3%: eosinophils — 8.9%; basophils — 0.6%; lymphocytes — 20.1%; monocytes — 7.4%; plasmocytes — 0.2%.

The identity of our results with those of other investigators for the "normal dogs", i.e. without diseases and with rational food, enables the utilization of the street dog "usual dog", as a normal dog, for general hematological purposes.

BIBLIOGRAPHY

1. *Ashley, A. and Guest, G. M.* — Distribution of blood phosphorus after suppression of renal function, *Journ. Clin. Invest.*, **13**: 219, 1934. Refered by Wintrobe, M. M. Clinical Hematology, 4 th. ed., Lea & Febiger, Philadelphia, pp. 670, 1944.

2. *Bruner, H. D. and Wakerlin, G. E.* — The blood picture of the normal dog, *Proc. Soc. Exper. Biol. and Med.*, **36**: 667, 1937.

3. *Cruz, W. O., Silva, E. M. and Mello, R. P.* — Dados hematológicos do cão adulto normal. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, **42**: 609, 1945.

4. *Landsberg, J. W.* — The blood picture of mature normal dogs, *Anat. Rec.*, **84**: 415, 1942.

5. *Leichsenring, J. M., Biester, A., Hönig, H. H., Furnas, S. M., Foss, E. S. and Routt, M. V.* — Observations on the blood of normal dogs with special reference to the measurement of volume, erythrocytes, leucocytes and nitrogenous constituents, *Am. Journ. Physiol.*, **99**: 391, 1932.

6. *Mayerson, H. S.* — The blood cytology of dogs. *Anat. Rec.*, **47**: 239, 1930.

7. *Morris, M. L., Stelton, N. J., Allison, J. B. and Green, D. F.* — Blood cytology of the normal dog, *Journ. Lab. and Clin. Med.*, **25**: 353, 1940.

8. *Musser, J. H. and Krumbhaar, E. B.* — Studies of the blood of normal dogs, *Folia Haematol.*, **18**: 579, 1914. Refered by Mayerson, H. S. (6).

9. *Rosenfeld, G.* — Corante pancrômico para hematologia e citologia clinica: Nova combinação dos componentes do May-Grünwald e do Giemsa num só corante de emprêgo rápido. *Mem. Inst. Butantan*, **20**: 329, 1947.

10. *Wintrobe, M. M., Schumacker, H. B. Jr. and Schmidt, W. J.* — Values for number, size and hemoglobin content of erythrocytes in normal dogs, rabbits, and rats, *Am. Journ. Physiol.*, **114**: 502, 1936.


cm 1 2 3 4 5 6 SciELO 10 11 12 13 14 15

TABLE I

Hematimetric data (red blood cells) of 60 "usual" dogs.

	R.B.C. x 10^6/mm³	Hb. gr%	Mean corp. hemogl. γγ	Hemat. %	Mean corp. volume μ^3	Hemosed. rate mm/60'	Fragility test: Partial Hemolysis (% NaCl)	Fragility test: Total Hemolysis (% NaCl)
MINIMUM	4.7	9.0	17.7	33.0	60.7	0.0	0.40	0.21
MAXIMUM	8.5	18.7	31.9	56.0	97.0	57.0	0.68	0.42
MEAN	6.2	13.8	22.2	45.4	73.3	14.[illegible]	0.47	0.33
σ	0.28	0.72	0.97	5.28	6.6	16.0	0.05	0.03
$\sigma_{\bar{x}}$	0.01	00.3	0.12	0.68	0.85	2.8	0.01	0.003
C%	4.5	5.2	4.36	11.62	9.0	108.4	9.7	9.09
C $\bar{x}$ %	0.58	0.2	0.56	1.5	1.15	1.9	1.2	1.15

TABLE II

Hematimetric data (leucocytes) of 30 "usual" dogs.

	Leucocytes x 10³/mm³	Specific count %						
		Nb	Ns	E	B	L	M	Pl
MINIMUM ...	2.6	0	13	2	0	7	2	0
MAXIMUM ...	26.3	28	72	22	3	10	15	2
MEAN	11.08	11.3	51.3	8.9	0.6	20.1	7.1	0.2
σ	5.81	7.69	12.99	5.47	0.82	8.11	2.93	0.51
$\sigma_{\bar{x}}$	3.42	1.42	7.63	1.0	0.15	1.5	1.07	0.09
C %	52.6	68.05	25.32	61.46	136.0	40.7	39.59	251.0
$C_{\bar{x}}$ %	30.8	12.56	11.87	11.23	25.1	7.5	14.45	41.0

Nb = Stab neutrophils; Ns = segmented neutrophils; E = eosinophils; B = basophils; L = lymphocytes; M = monocytes; Pl = plasmocytes

TABLE III

INVESTIGATORS	Nbr of animals	R.B.C. x10⁶x mm³	Hb g%	Mean corp Hb γγ	Hemat. %	Mean corp. vol. μ^3	R.B.C. sedimentation rate mm 60'	Leuc. x10³ mm³	Nb %	Ns %	E %	B %	L %	M %	Pl %	Frag. test Partial hemol. % NaCl	Frag. test Total hemol. % NaCl
Ashley, A. and Guest, G.M. Refer by Wintrobe, M.M. (1)		6,9	16,0	24,0	45,6	67		—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Bruner, H. D. and Wakerlin, G. E. (2)	34	6,15	13,5		44,2	68,9		11,1	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Cruz, W. O. and al. (3)	135	5,7	12,6	22,0	42,0	74,0	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Landsberg, J. W. (4)	66	6,27	13,9	21,8	44,2	70,5	—		—	—	—	—	—	—	—	0,16	0,31
Leichsering, J. M. and al (5)	32	7,17	14,1	19,6	47,7	66,5	—	8,7	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Mayerson, H. S. (6)	60	6,16	13,0	20,0	33,6	59,3	—	11,1	—	74	2	< 1	20	4	—	—	—
Morris, M. L. and al. (7)	66	6,2	15,1	21	—	—	—	11,4	6,5	65,2	5,4	0	21,7	< 1	—	—	—
Musser, J. H. and Krumbhaar E. B. Refered by Mayerson, H. S. (8)	47	5,97	15,4	25,9	—	—	—	15,9	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Wintrobe, M.M. and al. (10)	54	7,02	14,6	21,0	47,3	68	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Rosenfeld, G. and Hoehne, L. (Present work)	60	6,2	13,8	22,2	45,4	73,3	14,8	11,1	11,3	51,3	8,9	0,6	20,1	7,4	0,2	0,47	0,33


cm 1 2 3 4 5 6 SciELO 10 11 12 13 14 15

Mem. Inst. Butantan.
25(2):77-89. 1953.

CONTRIBUIÇÃO AO ESTUDO DAS FORMAS LARVÁRIAS DE TREMATÓIDES BRASILEIROS

5 — *Descrição de três furcocercárias que ocorrem em planorbídeos hospedeiros do Schistosoma mansoni.*

POR JOSÉ M. RUIZ

(*Secção de Parasitologia, Instituto Butantan*)

Em viagem realizada ao Estado de Minas Gerais percorrendo um trecho da estrada Rio-Bahia, tivemos ocasião de verificar, em moluscos que identificámos ao *Australorbis glabratus* (*Say*, 1918), a infestação por uma furcocercária que é descrita na presente nota como *Cercaria caratinguensis*, sp n.

Examinando planorbídeos de Santos, Estado de São Paulo, remetidos pelo Dr. Paulo de Azevedo Antunes e identificados ao *Australorbis immunis* (Lutz, 1918), encontrámos, ao lado de outras formas já bem conhecidas, duas furcocercárias que também descreveremos a seguir. Uma foi identificada à forma larvária de *Clinistomum heluans* Braun, 1899, ja referida ou sumàriamente descrita por vários autores. Trata-se de *Cercaria ocellifera* (Lutz, 1917) que redescreveremos com mais pormenores. Outra é uma forma aparentemente não assinalada na literatura e que passamos a denominar *Cercaria amplicoecata* sp. n.

Cercaria caratinguensis, sp. n.

Estrigeocercária, faringeada, longifurcada. Corpo alongado, estreito, com a extremidade anterior arredondada e a posterior ligeiramente truncada. Comprimento 0.129 a 0.172 mm, largura 0.061 a 0.070 mm. Cuticula espinhosa principalmente na metade anterior. Na região cefálica os espinhos são muito densos raleando progressivamente para trás. Ventosa oral ligeiramente alongada no sentido longitudinal, bem desenvolvida, medindo 0.025 a 0.040 mm de comprimento por 0.025 a 0.038 mm de largura. Ao lado da abertura bucal, que é terminal, desembocam os ductos glandulares que margeiam a ventosa e se dirigem para trás em percurso sinuoso, ultrapassando o acetábulo. As glân-

Recebido para publicação em 31. XII. 53

dulas de penetração situam-se imediatamente atrás dêsse órgão, formando um aglomerado mediano entre o mesmo e a vesícula excretora. O número exato de células glandulares não foi determinado, apresentando estas pouca eletividade pelos corantes vitais (vermelho neutro e azul de nilo). Acetábulo de contôrno circular, com um diâmetro de 0,025 a 0,031 mm, situado no meio do corpo. Acima da zona acetabular, sub-lateralmente, estão situados os ocelos que são grandes, de contôrno circular; aparecem como duas manchas claras, muito evidentes, desprovidas de pigmentos. Aparelho digestivo bem desenvolvido. Faringe musculosa, ligeiramente alongada no sentido longitudinal, com um diâmetro transverso próximo de 0,010 mm. Esófago relativamente longo. Cecos iniciando-se, mais ou menos, na altura dos ocelos, envolvendo o acetábulo que ultrapassam um pouco posteriormente; os cecos se coram intensamente pelo vermelho neutro.

Cauda relativamente curta e larga, medindo 0,148 a 0,172 mm de comprimento por 0,037 a 0,043 mm de largura. Furcas achatadas lateralmente, mais longas que a cauda, medindo 0,166 a 0,191 mm de comprimento por cêrca de 0,012 mm de largura (material fixado). No interior da cauda existem 5 pares de "corpos caudais" ou "células caudais", formando um conjunto muito característico. A cutícula da cauda apresenta um certo número de cerdas relativamente longas e retilíneas; tais cerdas se originam em pequenos tubérculos (vide fig. 1). Não observámos cerdas nas furcas. Como trabalhámos com material fixado, para tais observações de quetotaxia, não consideramos as verificações como completas.

Vesícula excretora posterior, globóide, medianamente desenvolvida. Canais coletores primários inseridos súpero-lateralmente dando á vesícula um aspecto de conjunto semelhante ao de um escudo; dirigindo-se para a frente, passam pelos flancos do conjunto glandular e, imediatamente abaixo do acetábulo, onde parece existir uma anastomose mediana, dão origem aos canais secundários. O canal secundário anterior dá origem a dois capilares, entre os terços médio e anterior do corpo, que terminam em células vibráteis. O canal secundário posterior dá origem a dois capilares que se bifurcam por sua vêz e terminam em quatro células vibráteis que guarnecem a metade posterior do corpo. Prolonga-se ainda pela cauda em cuja base termina numa célula vibrátil caudal. O canal excretor caudal é mediano e se prolonga pelas furcas após a bifurcação.

Em resumo, há 12 células vibráteis, simétricamente dispostas nos dois lados do corpo: em cada lado, duas pre-acetabulares e quatro post-acetabulares; na base da cauda há duas células vibráteis. A fórmula do sistema excretor é, pois, $2\ (3 \times 2\ (+1))$ ou $2\ (2 + 4\ (+1)) = 12\ (+2)$.

Mem. Inst. Butantan,
25(2):77-89. 1953.

Cercária caratinguensis se origina em esporocistos muito longos e delgados, com cêrca de 0,5 mm de comprimento, de coloração amarelada. Formam um emaranhado na região do hépato-pâncreas.

Hospedeiro: *Australorbis glabratus* (Say, 1818).

Procedência: Caratinga, Estado de Minas Gerais.

. . . .

Comportamento: Esta cercária, que emerge espontaneamente em grande quantidade, é muito ativa estando em movimento a maior parte do tempo. Pelo tipo de movimento se confunde com a do *S. mansoni*, formando um *8* caracteristico e deslocando-se para trás. Repousa alguns momentos no meio líquido ou na superfície, permanecendo então com as furcas abertas, o corpo para baixo, assumindo tipicamente a forma de um *T*.

Diagnose diferencial: No mesmo lote de moluscos encontrámos, com certa freqüência, a infestação por uma *Tetracotyle* que bem poderia ser a fase seguinte da presente espécie. Por essa razão procurámos identificá-la à *Dicranocercaria mollusciteta* de Lutz. Pelas dimensões dadas por êste autor notámos que, embora o corpo tenha um comprimento próximo, a cauda em *C. caratinguensis* é bem mais longa, dando-se o mesmo com as furcas que são sempre mais longas que o corpo, ao contrário da espéciede Lutz. A descrição de *mollusciteta* é absolutamente inadequada mas a presença dos ocelos, embora não pigmentados, não poderia escapar à observação do autor.

Cercaria pseudoburti Rankin jr., 1939 é muito próxima de nossa espécie. Devem ser congenéricas as formas adultas. O número de corpos caudais diferencia fàcilmente as duas espécies: cinco pares em *C. caratinguensis* e sete pares em *C. pseudoburti*.

Cercaria amplicoeccata, sp. n.

Estrigeocercária, faringeada, longifurcada. Corpo alongado, estreito: extremidade anterior arredondada e posterior ligeiramente truncada. Comprimento 0,172 mm, largura 0,043 mm. Cutícula revestida de fileiras transversais de espinhos. Êstes são mais densos na extremidade anterior, na região da ventosa oral. Abaixo dessa zona as fileiras são regularmente espaçadas de modo a se formarem 7 ou 8 até o nível da zona acetabular: daí para trás são mais esparsas e os espinhos mais ralos. Ventosa oral alongada ou elipsoide, medindo 0,047 mm de comprimento e 0,022 mm de largura. Ao lado da abertura bucal, que é terminal, se exteriorizam os ductos glandulares, formando duas pequenas saliências laterais. Os ductos são sinuosos e estreitos na porção mais anterior mas se avolumam bastante na porção basal, antes de atingirem as glândulas de

penetração. Estas estão situadas imediatamente adiante do acetábulo e são constituidas por seis células, sendo três de cada lado. As duas células mais posteriores, de cada lado, são bem desenvolvidas e a terceira, que é mais interna, é menor. Acetábulo de contôrno circular, bem desenvolvido, de abertura ampla, situa-se imediatamente abaixo da linha equatorial do corpo e mede 0,028 mm de diâmetro. Aparelho digestivo bem desenvolvido. Faringe presente. Esôfago longo e delgado, atingindo as proximidades da zona acetabular. Cecos muito amplos e relativamente longos, terminando um pouco acima da vesícula excretora.

Cauda longa e uniforme, medindo 0,216 mm de comprimento por 0,030 mm de largura. Furcas achatadas lateralmente, longas, com um comprimento aproximado ao da cauda, ou ligeiramente maior, 0,328 mm. No interior de cauda é possível descobrir cêrca de 8 pares de corpos caudais, e, exteriormente, observar dois pares de cerdas latero-basais. Nas furcas as cerdas são relativamente numerosas e curtas (vide fig. 13).

Sistema excretor simples, sem anastomoses aparentes. Vesícula excretora globóide, um tanto ampla. Canais coletores primários inseridos na porção superior e lateral; dirigem-se para a frente pelos lados dos cecos e do acetábulo. Os canais secundários se originam na altura da zona das células glandulares. O corpo apresenta 16 células vibráteis, 8 em cada lado, sendo 3 na metade anterior e 5 na posterior. A cauda apresenta 4 células vibráteis, 2 próximas da base, uma no meio e uma entre as já citadas. A fórmula do sistema excretor é, pois, igual a 2 (8 X 1 (+ 2)) = 16 (+ 4).

Cercaria amplicoccata provém de esporocistos longos e ramificados que formam novelos na região do hépato-pâncreas do molusco.

Hospedeiro: *Australorbis immunis* (Lutz, 1918).

Procedência: Santos, Estado de São Paulo.

Comportamento: Não fizemos observações sôbre cercárias emersas naturalmente. Colocada em vidro de relógio, juntamente com o material da dissecção do molusco diluido num pouco de água, esta cercária tem uma atitude muito peculiar: movimenta-se bruscamente, com o movimento em *8* típico das estrigeocercárias, e em seguida se paralisa, também bruscamente. Produz assim uma alternância de movimentos e estacionamentos, fato que chama a atenção. Quando quiescente, as furcas ficam diametralmente opostas à cercária, assumindo a forma de um *T*. Em preparados entre lâmina e lamínula agita-se quase sem cessar. As furcas assumem posições muito variadas, cruzando-se freqüentemente, como uma tesoura, e enrolando ainda uma ou ambas as pontas para o lado externo. Com freqüência formam uma dobra, mais ou menos no meio, de modo a apresentarem a configuração de um ângulo obtuso. Outras vezes

Mem. Inst. Butantan,
25(2):77-89. 1953.

ainda se dobram para a frente formando uma figura semelhante a uma âncora. Fixadas pelo formól acético assumem várias posições (vide figs. 16 a 18).

Diagnose diferencial: Cercaria amplicoccata não se identifica a nenhuma das furcocercárias assinaladas no Brasil.

Na aparência geral e pelo número de células vibráteis do corpo e da cauda, assemelha-se a *Cercaria douglasi* descrita na América do Norte por Cort em 1917 e redescrita em 1941 por Oliver & Cort. Difere, entretanto, daquela forma principalmente pela distribuição e disposição dos espinhos cuticulares, pela ausência de ocelos não pigmentados e pela disposição das células caudais. Pelos mesmos caracteres difere ainda de outra forma próxima, *Cercaria rauae* Cort & Brackett, 1938. *Cercaria micradena* Cort & Brackett, 1938 se assemelha mais que as primeiras quanto aos detalhes do sistema excretor, na qual falta, como em *amplicoccata*, uma anastomose dos canais primários, próxima ao acetábulo. Difere da nossa espécie principalmente pela disposição das células glandulares de penetração que se distribuem em dois grupos separados pelo acetábulo.

Cercária de *Clinostomum heluans* Braun, ou *Cercaria ocellifera* (Lutz, 1917).

Estrigeocercária, faringeava, brevifurcada. Comprimento do corpo 0.172 a 0,185 mm. Ventosa oral: 0,053 mm de comprimento por 0,027 mm de largura. Acetábulo com 0,012 mm de diâmetro e distando 0.117 mm de extremidade anterior. Tronco da cauda com 0,339 a 0,390 mm de comprimento por 0,030 a 0,037 mm de largura. Furcas com 0,123 a 0,195 mm de comprimento. Ocelos medindo 0,009 mm de diâmetro e situados a 0,080 mm da extremidade anterior. Cercárias provenientes de rédias típicas de intestino longo.

Hospedeiro: Australorbis immunis (Lutz, 1928).

Localidade: Santos. Estado de São Paulo. Brasil.

Esta cercária foi encontrada em 3,6% dos 191 moluscos dissecados, procedentes do bairro do Saboó, Santos, em Maio de 1953.

A cercária é muito longa em seu conjunto. Quando distendida, o corpo apresenta o mesmo diâmetro da cauda. O corpo é revestido por cutícula espinhosa, sendo os espinhos mais abundantes na região anterior. A ventosa oral é alongada no sentido longitudinal e tem a forma de ovo truncado. Suas paredes são espêssas e entre as mesmas há uma grande cavidade alongada, por onde passam os ductos das glândulas cefálicas que são dilatados nessa altura. Funciona a ventosa oral como um orgão protráctil, como se observa nas cercárias dos esquistossomídeos. À ventosa oral segue um intestino rudimentar, delgado, com trajeto sub-dorsal e retilíneo, que atinge o nível da região acetabular. Um pouco atrás do acetábulo se alarga, formando uma espécie de vesícula arredondada. A presença de uma faringe é por vezes esboçada na região mais anterior, mas essa estrutura é de interpretação duvidosa na maioria dos exem-

plares examinados, parecendo existir sob forma embrionária pouco adiantada. O acetábulo é muito pequeno, de contôrno circular, situado um pouco atrás da zona equatorial do corpo. É observado mais fàcilmente, estando o corpo de perfil, posição aliás preferida pela cercária, quando examinada nos preparados microscópicos. O corpo apresenta, na metade posterior da face dorsal, uma crista mediana, relativamente larga, com a forma aproximada de meia-lua. Começa ao nivel da linha que passa pelos ocelos e, à medida que se extende para trás, aumenta progressivamente de largura até atingir um máximo, na região mediana; depois, progressivamente, diminúi de diâmetro e termina em ponta, próximo à extremidade posterior do corpo. Apresenta várias pregas transversais que sustentam a porção membranosa em posição erecta, aparecendo como espessamentos refringentes.

Segundo Lutz (1933, p. 355), a crista se prolonga pela cauda, mas em nosso material jamais observámos tal ocorrência.

Os ocelos aparecem como duas manchas negras, colocadas simètricamente logo adiante da linha mediana do corpo. A pigmentação negra aparece com muita nitidez sob a forma de grânulos que formam um conjunto de contôrno circular. O corpo da cercária é repleto de células espêssas, o que dificulta a observação dos caracteres anatômicos. As glândulas de penetração formam um conjunto de células granulosas, de núcleo arredondado, situado na zona compreendida entre os ocelos e o acetábulo. O número exato de células glandulares não póde ser precisado, parecendo existir 8 ou mais, distribuidas em dois grupos confluentes. Os ductos glandulares apresentam um trajeto um tanto tortuoso, passando entre os océlos e penetrando na ventosa oral pela base. Existem pelo menos dois canais de cada lado. No interior da ventosa oral, êsses canais se dilatam muito, preenchendo uma cavidade ovalada que se evidencia muito bem. Atrás do acetábulo, ventralmente, existem duas áreas justapostas, arredondadas, ocupando toda a parte central do corpo. Tais áreas são preenchidas por células pequenas e arredondadas. Trata-se, provàvelmente, do primórdio genital.

A vesícula excretora é estreita e alongada, prolongando-se até a cauda numa certa extensão. Os ductos excretores não foram observados em minúcia, exceção feita ao canal primário que tem um trajeto lateral e se extende até um nível ligeiramente anterior ao acetábulo.

São observadas no corpo 8 células vibráteis, 4 de cada lado. A primeira célula excretóra está situada um pouco acima do nivel dos ocelos. As 2.ª e 3.ª são muito próximas e se localizam um pouco atrás da zona acetabular e a 4.ª nas proximidades do extremo posterior. Na base da cauda existem 2 células excretoras. A fórmula do sistema excretor é, pois, $= 2 (4 \times 1 (+ 1)) = 8 (+ 2)$. Um longo canal excretor se prolonga pelo centro da cauda e das

furcas, acompanhando a bifurcação, exteriorizando-se na extremidade destas, onde se forma uma ampôla de forma cônica.

A cauda é longa, como diz Lutz, aproximadamente 3/5 do comprimento total. Apresenta um diâmetro homogêneo em toda a extensão. As furcas são achatadas lateralmente, tendo na base a mesma largura que a cauda. É revestida por cutícula espêssa e apresenta estrias transversais numerosas. Existem muitas células caudais e granulações refringentes. São observadas diversas cerdas, distribuidas pelas margens laterais: existe uma fileira de 6 de cada lado do tronco da cauda, e uma na parte mediana de cada furca. As cerdas são longas e retilíneas, estando implantadas em pequenos tubérculos que se destacam como pontos refringentes.

Como em outros pormenores, no que se refere à quetotaxia, a nossa observação está de acôrdo com a de Krull (1934), para a cercária de *Clinostomum marginatum* (Rud., 1819).

Comportamento: A emersão espontânea parece ser pequena nesta espécie. Expondo-se um molúsco infestado, contido num frasco de Borrel com cêrca de 30 ml. de água, à ação de uma lâmpada elétrica, observam-se raras cercárias ao fim de 3 horas. Deixando o mesmo frasco durante tôda a tarde e tôda a noite, sem iluminação e temperatura ambiente, no dia seguinte observa-se um número bem maior de cercárias na água, uma centena talvez. Parece, portanto, que a ação da luz e do calor pouco influem na emersão espontânea da cercária.

Nas condições acima, esta cercária mostra um comportamento completamente diferente do observado na espécie *Schistosoma mansoni*. Não procura a superfície do liquido, não se prende às paredes, nem atinge o fundo do recipiente. A posição predileta é a de repouso no meio do liquido: permanece com o corpo flectido ventralmente, cauda reta bem como as furcas que ficam entreabertas, formando um ângulo aproximado de 45.º. Nessa atitude, cabeça para baixo, menos freqüentemente inclinada, a cercária cai muito lentamente durante um certo percurso. Antes de atingir o fundo (talvez evitando um excesso de pressão), executa um movimento vibratório, semelhante à de *S. mansoni*, e sobe ràpidamente, a cauda à frente, perfazendo um trajeto quase igual ao feito pela queda lenta. Raramente dá uma rápida volta em circulo pequeno durante a ascenção. Agitando-se a água, todas as cercárias se movimentam bruscamente mas lôgo ficam imóveis, deixando-se levar, indiferentemente, pela corrente do liquido.

Em preparados microscópicos, a fresco, a cercária se movimenta muito, reagindo à pressão da laminula. Assume posições as mais variadas. O corpo, quando quiescente, dobra-se ventralmente e no preparado a cercária aparece de lado. A cauda se agita, se contrai, se alonga, forma estrangulamentos, mas quando repousa em posição normal é, via de regra, reta.

Pela ação prolongada dos corantes vitais a cercária morre e assume vários aspectos, como os representados nas figuras 8 a 12. Confrontadas com pequenos Caracideos, formam metacercárias a principio móveis e idênticas ao corpo sem cauda da cercária. São abundantes entre os espaços das nadadeiras. Posteriormente assumem a forma arredondada e são envolvidas por uma membrana hialina. O saco intestinal das metacercárias se apresenta repleto de granulações refringentes, amarelo-esverdeadas e, logo atras, se notam duas formações arredondadas, em seqüencia, que devem representar as formações testiculares. O sistema excretor é idêntico ao do corpo da cercária.

Cercaria ocellifera foi sumáriamente descrita por Lutz em 1917 de *Planorbis*, procedente de Manguinhos.

Em 1919, o mesmo autor apresenta figuras (estampa 41, figs. 64-66) sem maiores explicações ou descrição, dando nessa ocasião a denominação da espécie: *Dicranocercaria ocellifera*.

Em 1933, Lutz apresenta uma descrição mais detalhada, porém incompleta e sem medidas. Apresenta ainda figuras da cercária (fig. 5) e da rédia (fig. 5.ª). Nota-se que a fig. 5 representa uma cópia da fig. 65 do trabalho de 1919, apresentando alterada a posição do corpo. Diz o autor, à página 355: "Uma cercária de cauda bifurcada que já mencionei em ocasião anterior como ocorrendo no Norte (Aracajú, 9-3-20), vive em espécies de *Planorbis*..." e à página 446: "No começo de março de 1931 observei de novo a *Dicranocercaria ocellifera* na água de um lote de *Planorbis immunis* da vizinhança do Instituto..."

Em 1934, Lutz reproduz o ciclo evolutivo experimental desta cercaria que, passando pela forma de metacercária através de girinos e peixes, se desenvolve em aves na fase adulta de *Clinostomum heluans* Braun, 1899.

Em 1945, foi referida em *Australorbis nigricans* de São Paulo, Capital, por Pinto e Maciel e por Leão de Moura em *Australorbis glabratus* (?) de Santos, Est. de São Paulo.

Provàvelmente foi vista por Coutinho, em 1949, nos mesmos moluscos de Santos, sendo referida como "forma semelhante à *C. neotropicalis* Faust & Hoffman."

Finalmente foi referida em *Australorbis olivaceus* (?) nas vizinhanças de Manguinhos, por Paraense, em 1951.

RESUMO

São descritas duas espécies de furcocercárias do grupo das faringeado-longifurcadas: *Cercaria caratinguensis*, sp. n. e *Cercaria amplicoecata*, sp. n.

É feita uma redescrição da cercária de *Clinostomum heluans* Braun, 1899 (*Dicranocercaria ocellifera* Lutz, 1919).

Mem. Inst. Butantan,
25(2):77-89. 1953.

SUMMARY

Two furcocercous cercariae of the pharyngeata-longifurcata type were described: *Cercaria caratinguensis*, sp. n. and *Cercaria amplicoccata*, sp. n.
A redescription of the cercaria of *Clinostomum heluans* Braun, 1899 (*Dicranocercaria ocellifera* Lutz, 1919) is given.

BIBLIOGRAFIA

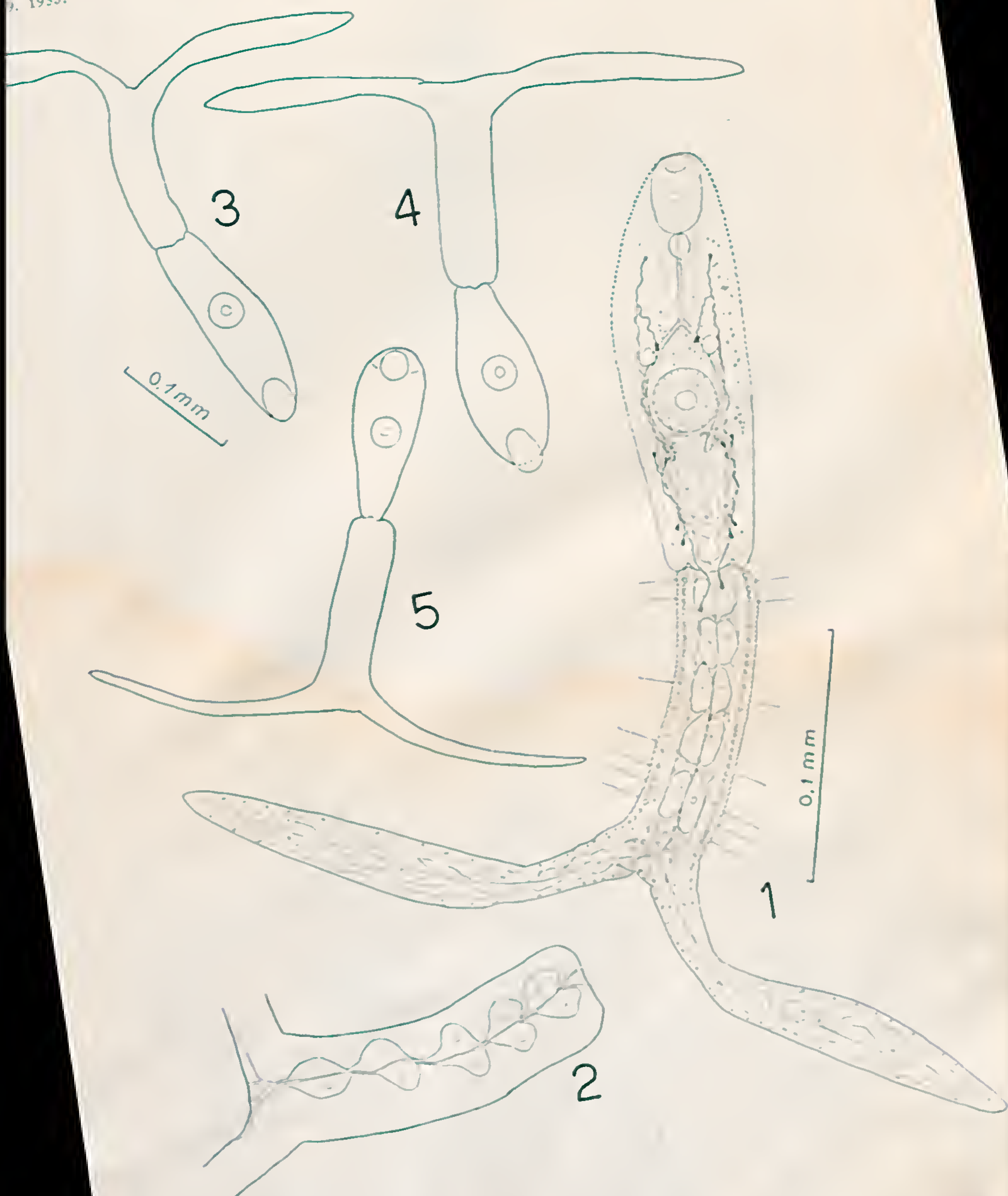
1. Cort, W. W. Homologies of the excretory system of the forked-tailed cercariae. *J. Parasitol.*, **6**: 49-57. 1917.
2. Cort, W. W. & Brackett, S. Two new species of strigeid cercariae from the Douglas Lake region, Michigan. *J. Parasitol.*, **23**: 265. 1937.
3. Cort, W. W. & Brackett, S. Two new species of strigeid cercariae in *Stagnicola palustris elodes* (Say) from the Douglas Lake region. *Trans. Amer. Micr. Soc.*, **57**: 276-281. 1938.
4. Cort, W. W. & Brackett, S. A new strigeid cercaria which produce a bloat diseae of tadpoles. *J. Parasitol.*, **24**: 263-271. 1938.
5. Coutinho, J. O. Contribuição para o estudo do hospedador intermediário do *Schistosoma mansoni* em Santos-São Paulo. *Rev. Clin. de São Paulo*, **25**: 31-38. 1949.
6. Krull, W. H. Some observation on the cercaria and redia of species of *Clinostomum* aparently *C. marginatum* (Rudolphi, 1819) (Trematoda: Clinostomidae). *Proc. Helm. Soc. Wash.*, **1**: 34-35. 1934.
7. Lutz, A. Observações sobre a evolução do *Schistosomum mansoni* (2.ª nota previa). *Brasil Medico*, **31** (10-11): 81-82, 89-90. 1917.
8. Lutz, A. O *Schistosomum mansoni* e a schistosomatose segundo observações feitas no Brasil. *Mem. Inst. O. Cruz*, **11**: 121. 1919.
9. Lutz, A. Estudios de zoologia y parasitologia venezuelanos. Rio de Janeiro, 133 pp., 26 est., 1928.
10. Lutz, A. Notas sobre dicranocercarias brasileiras. *Mem. Inst. O. Cruz*, **27**: 349-376. 1933.
11. Lutz, A. Outro grupo de trematoides nascendo de dicranocercarias e outro caso de espécie com cécos abrindo para fora. *Mem. Inst. O. Cruz*, **29**: 229-238. 1934.
12. Moura, S. A. L. Schistosomose mansoni autóctone em Santos. *Rev. Inst. Adolpho Lutz*, **5**: 279-311. 1945.
13. Oliver, L & Cort, W. W. *Cercaria douglasi* Cort, 1917 and its relation to the cercaria of *Cotylurus flabeliformis* (Faust, 1917) *J. Parasitol.*, **27**: 343-346. 1941.
14. Paraense, W. L. Observações adicionais sobre o sexo do *Schistosoma mansoni* nas infestações por cercárias de um único sexo. *Mem. Inst. O. Cruz*, **47**: 535-556. 1951.
15. Pinto, C & Maciel, J. J. Estudos sobre a Schistosomose ou Schistosa em São Paulo. São Paulo, 4 pp., 1945. (Impresso).
16. Pinto, C. & Almeida, A. F. Schistosomiasis Mansoni no Brasil. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz, Monogr. n.º 5*, 272 pp., 20 est., 1945.
17. Rankin Jr., J. S. *Cercaria pseudoburti*, n. sp. a strigeid cercaria from Western Massachusetts. *J. Parasitol.*, **25**: 87-91. 1939.

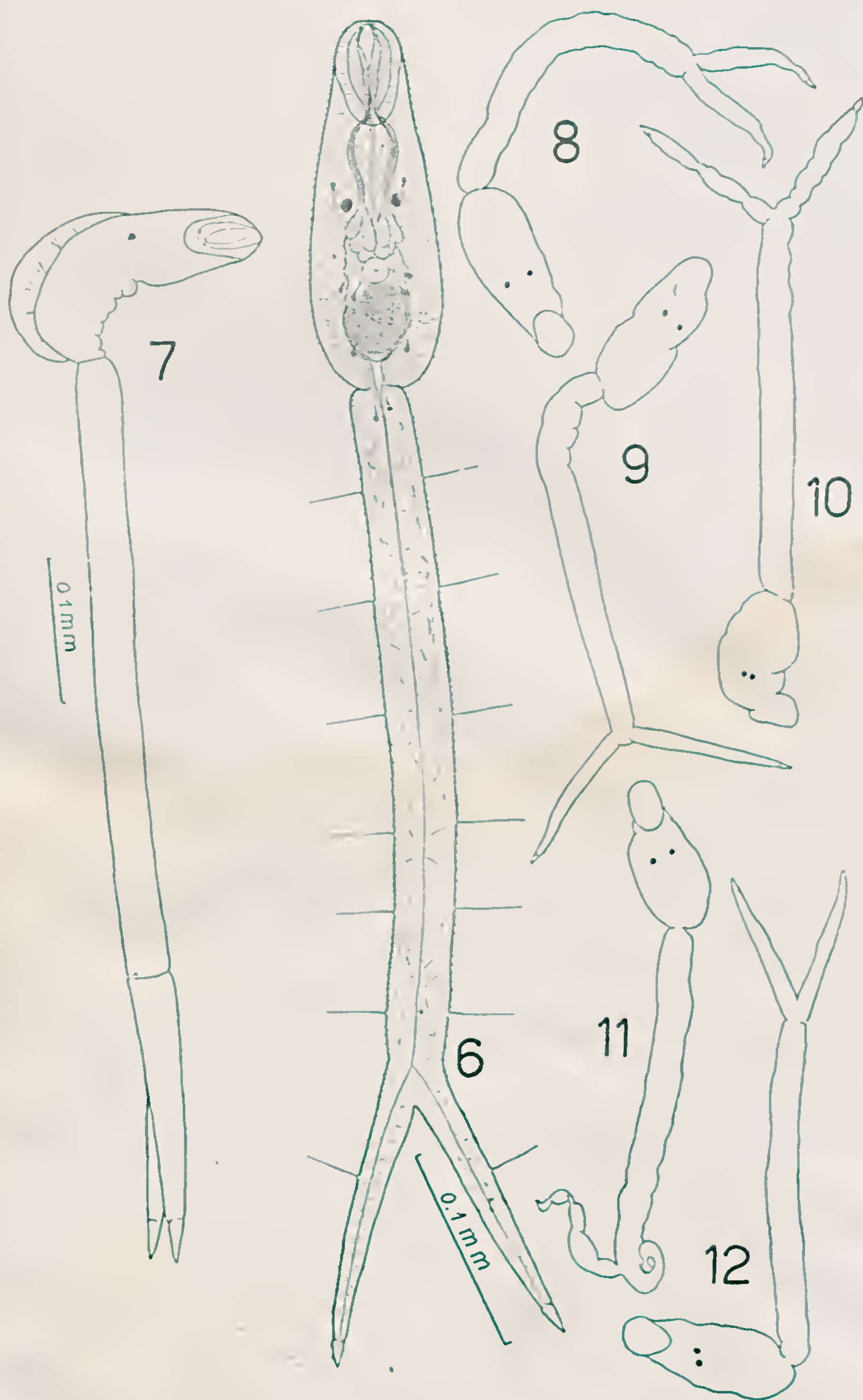
EXPLICAÇÃO DAS FIGURAS

Prancha I. *Cercaria caratinguensis*, sp. n.
1 — Vista total. 2 — Pormenor da cauda mostrando as células caudais. 3 a 5 — Várias atitudes da cercária (material fixado). Câmara clara.

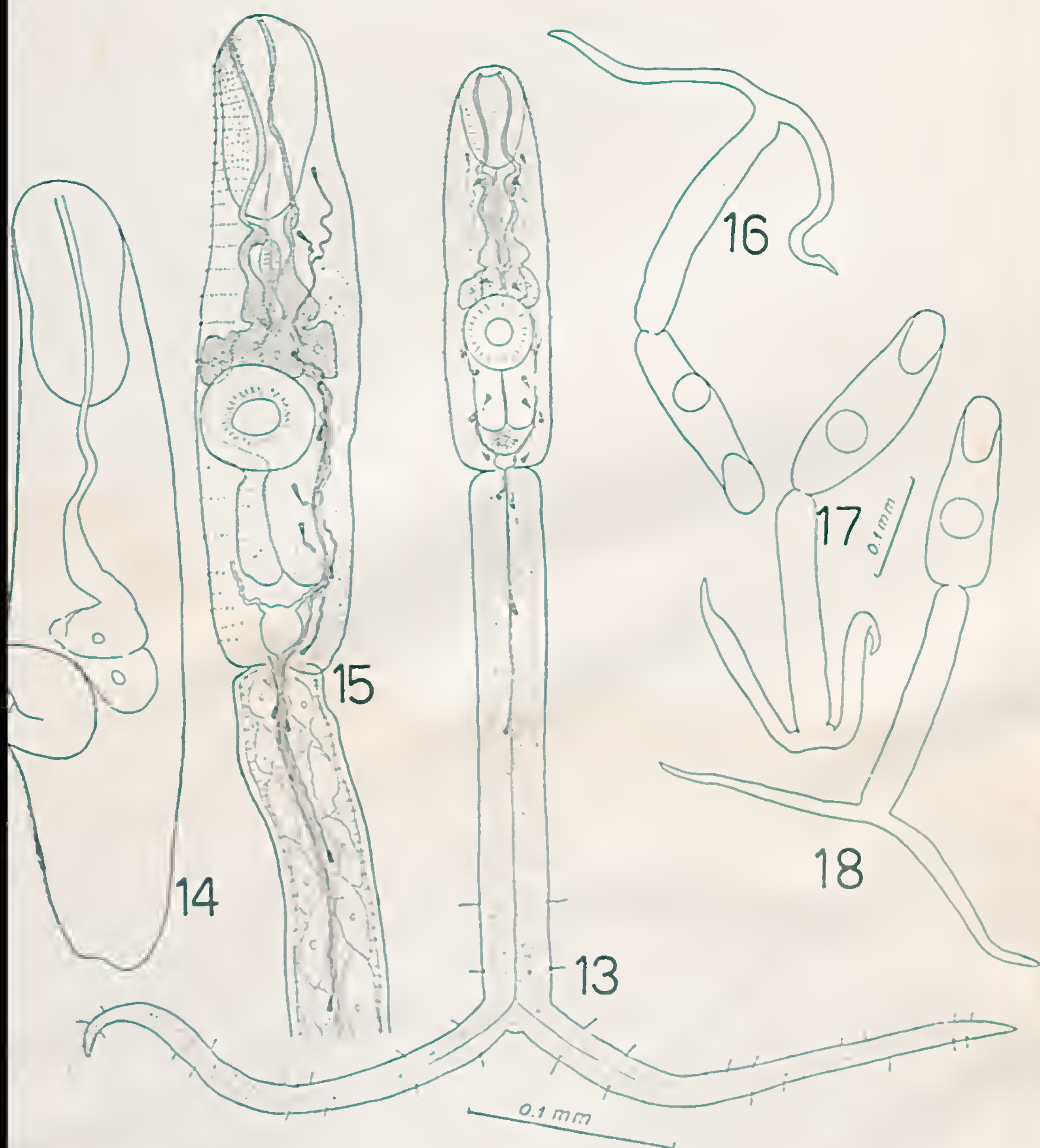
Prancha II. *Cercaria ocellifera* (Lutz, 1919).
6 — Vista total. 7 — Idem de perfil. 8-12 — Atitudes da cercária (material fixado). Câmara clara.

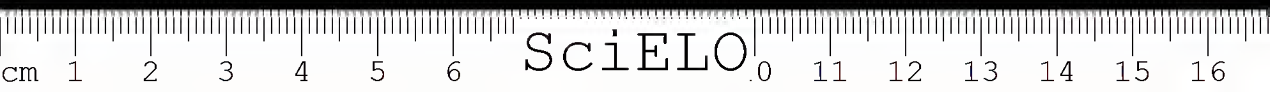
Prancha III. *Cercaria amplicoecata*, sp. n.
13 — Vista total. 14 — Corpo de perfil. 15 — Pormenor do corpo e parte da cauda. 16 a 18 — Atitudes da cercária (material fixado). Câmara clara.


3
4
0.1mm
5
0.1 mm
1
2

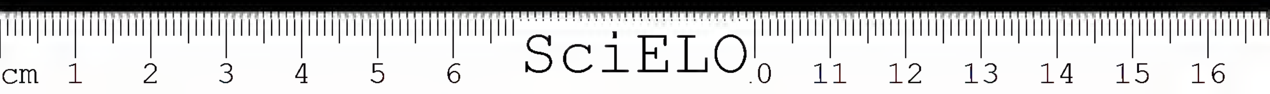

7
0.1mm
6
0.1mm
8
9
10
11
12

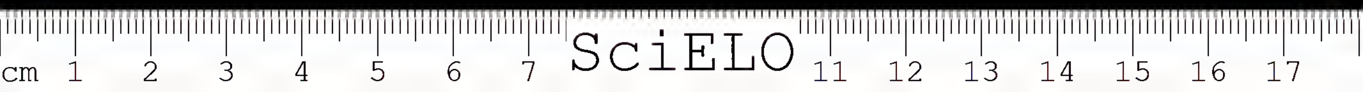
Mem. Inst. Butantan,
25(2):77-89. 1953.




SciELO


cm 1 2 3 4 5 6 SciELO 10 11 12 13 14 15


cm 1 2 3 4 5 6
SciELO
10 11 12 13 14 15 16


cm 1 2 3 4 5 6 7 SciELO 11 12 13 14 15 16 17



★ Impresso na ★
EMPRESA GRAFICA DA
"REVISTA DOS TRIBUNAIS" LTDA.
★ São Paulo ★

